

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie,
Infektions- und Seuchenmedizin
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. DDr. h.c. A. Mayr

**EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE
UNSCHÄDLICHKEIT UND WIRKSAMKEIT EINER ORALEN
BZW. KOMBINIERTEN ORALEN UND PARENTERALEN
SCHUTZIMPfung MIT INAKTIVIERTEN ODER
LEBENDEN AVIRULENTEN BAKTERIEN GEGEN
SALMONELLA TYPHIMURIUM BEIM KALB.**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Till Lugtenburg
aus München
München 1981

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie,
Infektions- und Seuchenmedizin
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. DDr. h.c. A. Mayr

EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE UNSCHÄDLICHKEIT
UND WIRKSAMKEIT EINER ORALEN BZW. KOMBINIERTEN
ORALEN UND PARENTERALEN SCHUTZIMPFUNG MIT
INAKTIVIERTEN ODER LEBENDEN AVIRULENTEN BAKTERIEN GEGEN
SALMONELLA TYPHIMURIUM BEIM KALB.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Till Lugtenburg
aus München
München 1981

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. J. von Sandersleben

Referent: Prof. Dr. DDr. h.c. A. Mayr

Korreferent: Prof. Dr. I. Rüsse



Tag der Promotion: 24. Juli 1981

Inhaltsübersicht

Seite

A	EINLEITUNG	1
B	SCHRIFTTUM:	2
	1. Bedeutung der Salmonellose	2
	2. Vorkommen und Verbreitung	4
	3. Pathogenese	8
	3.1. Eintrittspforte	8
	3.2. Vermehrung und Generalisation	11
	3.3. Organmanifestation	14
	4. Ausscheidung	17
	5. Übertragung	20
	6. Klinik	22
C	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	29
	1. Material und Methoden	29
	1.1. Versuchstiere	29
	1.2. Bakterienstämme	29
	1.3. Impfstoffherstellung	30
	1.4. Applikation des Impfstoffes	31
	1.5. Infektionsbelastungsversuch	31
	1.6. Bakteriologische Untersuchung der Kotproben	32
	1.7. Bakteriologische Untersuchung der Organproben	32
	1.8. Antikörperbestimmung	33
	1.8.1. Serumgewinnung	33
	1.8.2. Indirekte Hämagglutination	33
	2. Ergebnisse	35
	2.1. Unschädlichkeitsuntersuchungen	35
	2.2. Infektionsbelastungsversuch	37
	2.3. Antikörperuntersuchung	42
D	BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE	51
E	ZUSAMMENFASSUNG / SUMMARY	56
F	LITERATURVERZEICHNIS	59

A

EINLEITUNG

Kälber spielen als Infektionsquelle für die Salmonellosen des Menschen eine wichtige Rolle. Bei Mensch und Kalb steht als Erreger die Art *Salmonella typhimurium* an erster Stelle. Eine Abnahme der *Salmonella typhimurium* - Infektionen beim Kalb würde daher auch eine Abnahme der Salmonellosen beim Menschen bedeuten.

In vielen Forschungsarbeiten wurde versucht, mit der oralen Immunisierung die Salmonellose beim Kalb zu bekämpfen. Bei den meisten Untersuchungen verwendete man hitzeinaktivierte Keime zur oralen Immunisierung. Die bisherigen Ergebnisse waren aber sehr unterschiedlich und vermittelten letztlich keine Immunisierungsmethoden, die für den Praxiseinsatz reif gewesen wären.

In der vorliegenden Arbeit sollten neue Möglichkeiten der Immunisierung gegen *Salmonella typhimurium* untersucht werden. Nachdem die Salmonellose zwar in der Regel vom Darm ihren Ausgang nimmt, sonst aber als Allgemeininfektion abläuft, war es naheliegend, neben der lokalen Darmimmunität auch die systemische Immunität in die Überlegungen miteinzubeziehen. Deshalb wurde erstmals die Wirksamkeit einer kombinierten oralen und parenteralen Immunisierung gegen *Salmonella typhimurium* beim Kalb untersucht. Da Lebendimpfstoffe sehr viel besser für die Stimulierung einer lokalen und systemischen Immunität geeignet sind, wurde zusätzlich die Wirksamkeit von *Salmonella* - Impfstoffen auf der Basis von avirulenten *Salmonella typhimurium* - Mutanten untersucht.

B

SCHRIFTTUM.

1. Bedeutung der Salmonellose

Die Salmonellose ist eine bakterielle Infektionskrankheit bei Mensch und Tier. Ihr epidemiologisches Bild hat sich im letzten Jahrzehnt stark gewandelt. Die primären artspezifischen Salmonellosen, wie z.B. die Infektionen mit *Salmonella typhi* und *Salmonella paratyphi* beim Menschen, oder *Salmonella abortus-equi* oder *Salmonella gallinarum* beim Tier, sind durch die verbesserten hygienischen Verhältnisse und gezielten Bekämpfungsmaßnahmen zurückgedrängt worden (WEISE 1975, BULLING 1976a). An ihre Stelle treten in vermehrtem Umfang die sekundären Salmonellosen. Mit einem Anteil von über 40 % an den insgesamt isolierten Salmonellen steht *Salmonella typhimurium* beim Menschen auf dem ersten Rang, gefolgt von *Salmonella panama* (10 %), *Salmonella enteritidis* und *Salmonella infantis* (je 6 %) (PÖHN 1979, 1980). Beim Tier sind *Salmonella typhimurium* (ca. 60 %) und *Salmonella dublin* (10-20 %) besonders häufig (vgl. Abb. 1) (PIETZSCH 1978, 1979). Diese für Deutschland gültigen Angaben, sind auch für andere Länder repräsentativ (SOJKA et al 1975, RYDER et al 1976, SANDSTED et al 1980).

Wie aus Abbildung 2 ersichtlich ist, nahm die Zahl der statistisch erfaßten Salmonellosen vor allem bei Menschen, einen beängstigenden Aufschwung während beim Tier die Zahl der Salmonellosefälle in den Jahren 1970 bis 1977 nur gering angestiegen ist. In dieser Statistik sind aber nur die in der bakteriologischen Routinediagnostik isolierten Salmonellen enthalten. Erfahrungsgemäß

liegt aber die tatsächliche Zahl der Salmonellosen beim Tier sehr viel höher, da im Gegensatz zum Menschen ein kleiner Prozentsatz der erkrankten Tiere bakteriologisch untersucht und damit erfaßt wird. An diesen Lebensmitteln steckt sich der Mensch am häufigsten an (PIETZSCH 1976).

Die wirtschaftliche Bedeutung der Salmonellosen beruht weniger auf den Tierverlusten sondern mehr auf seuchenhygienischen Maßnahmen wie Gehöftsperrre, Schlachtverbot, und Nichtverwertbarkeit von tierischen Produkten. Davon ausgehend, daß man 1977 in Deutschland incl. Berlin (West) bei 2260 Kälbern Salmonellen feststellte (PIETZSCH 1979), errechnet sich der finanzielle Verlust, bei einem geschätzten Verkaufswert von 750.00 DM pro Kalb, mit 1,7 Mio. DM. In Amerika betrug der Schaden in den Jahren 1970 - 1976 ca. 3,8 Mio. Dollar (HOUSE 1978). Der tatsächliche wirtschaftliche Ausfall durch Salmonellen dürfte noch weit höher liegen, da in der ersten Rechnung nur die gesicherten Nachweise von Salmonellen, und im zweiten Beispiel nur die verendeten Tiere enthalten sind.

2. Vorkommen und Verbreitung

An Salmonellose erkranken vorwiegend Vögel, Rinder und Schweine, seltener Pferde und Fleischfresser (EDEL et al 1976). Einen Überblick über die Anzahl der Salmonella - Infektionen beim Tier (Rind, Kalb, Schwein und Geflügel) in Deutschland gibt Abbildung 3. Die Angaben über die Zahl der Salmonellenträger beim Säugetier schwanken zwischen 1 % und 10 % je nach Untersuchungszeitraum und Untersuchungsort (SCHULZ et al 1975, AMTSBERG und KIRPAL 1979, SANDSTED et al 1980).

Beim Geflügel sind ca. 25 % der Tiere mit Salmonellen verseucht (EDEL et al 1976), wobei in Mastbetrieben die Salmonellenquote über 50 % betragen kann (MERCURI et al 1978). Die durchschnittlichen Prozentzahlen für die einzelnen Vogelarten liegen in Deutschland bei 44 % für Tauben, 30 % für Hühner und 20 % für Puten (PIETZSCH 1979). In einer Untersuchung von TIZARD et al in Kanada konnten bei 15 % der wildlebenden Vögel Salmonellen gefunden werden. Von den verschiedenen Salmonella-Arten dominiert beim Geflügel heute Salmonella typhimurium (besonders var. copenhagen), während Salmonella gallinarum nur noch eine untergeordnete Rolle spielt. Der Anteil von Salmonella typhimurium an den Gesamtisolaten schwankt je nach Region zwischen 20 % (SANDSTED et al 1980) und 60 % (PIETZSCH 1979, SOJKA et al 1975, EDEL et al 1976).

Bei den anderen Haustieren wird in den Veröffentlichungen die Anzahl der verseuchten Tiere nicht in Prozentzahlen, sondern in absoluten Werten angegeben. Bei den wenigen prozentualen Angaben handelt es sich um regional begrenzte Untersuchungen, die nicht repräsentativ sind (SCHMITTHENNER 1979, WEISSER 1979).

1977 wurden bei 3394 Rindern und Kälbern in Deutschland Salmonellen nachgewiesen (PIETZSCH 1979). Bei einer Rinderzahl von 14,7 Mio. in Deutschland (Statistisches Jahrbuch Ernährung, Landwirtschaft und Forsten 1980) errechnet sich daraus eine Verseuchungsquote von 0,023 %. In dieser Zahl sind aber nur die zufällig im Rahmen der bakteriologischen Diagnostik isolierten Salmonellen enthalten. Bei Berücksichtigung der Dunkelziffer dürfte der Verseuchungsgrad erheblich höher liegen. KIUPEL et al geben z.B. einen Prozentsatz von 5 % an. Der Anteil der Kälber an den Gesamtisolaten liegt dabei zwischen 50 % und 70 % (PIETZSCH 1979). Eine Ausnahme bildet Irland, wo in manchen Regionen sogar bei 25 % der Rinder Salmonellen festgestellt wurden (Mc Caughey et al 1971b). Von den verschiedenen Salmonella-Arten dominieren beim Rind weltweit *Salmonella typhimurium* und *Salmonella dublin*. Während in den nördlichen Regionen vermehrt *Salmonella dublin* isoliert wird (SCHULZ et al 1975, SOJKA et al 1975, SANDSTED et al 1980), findet man in südlichen Ländern vorwiegend *Salmonella typhimurium* (PIETZSCH 1979, CABION und GLEDEL 1980). In Deutschland werden z.B. derzeit bei 50 % bis 60 % der positiven Proben *Salmonella typhimurium* und bei 20 % bis 40 % *Salmonella dublin* nachgewiesen (PIETZSCH 1979), oder in Frankreich bei 60 % *Salmonella typhimurium* und bei 35 % *Salmonella dublin* (CABION und GLEDEL 1980). In England und Wales liegen die Angaben bei 70 % für *Salmonella dublin* und bei 17 % für *Salmonella typhimurium* (SOJKA et al 1975) und in Schweden bei 54 % für *Salmonella dublin* und bei 41 % für *Salmonella typhimurium* (SANDSTED et al 1980).

Die Schweine rangieren heute an zweiter Stelle unter den Haustieren, was den Verseuchungsgrad mit Salmonellen betrifft. 1977 wurden in Deutschland bei 1787 Proben von Schweinen Salmonellen gefunden (PIETZSCH 1979). Die wenigen prozentualen Angaben beziehen sich nur auf bestimmte Gebiete, sie liegen jedoch alle etwa bei 20 % (EDEL et al 1976, LIOW und LOH 1977, NARUCKA und WESTENDORP 1977). Bei der Verteilung auf die einzelnen Salmonella-Arten ergeben sich regionale Unterschiede. In England und Wales steht noch Salmonella cholerae-suis mit 56,7 % deutlich vor Salmonella typhimurium mit 17,4 % (SOJKA et al 1975). In allen anderen Ländern finden wir auch beim Schwein hauptsächlich Salmonella typhimurium. Der Anteil von Salmonella typhimurium an den Gesamtisolate beträgt in Deutschland 57,5 % (PIETZSCH 1979) und in Schweden 29 % (SANDSTED et al 1980). Nach SOJKA et al verschiebt sich dieses Bild. Er beobachtete in den letzten Jahren einen Rückgang der durch Salmonella cholerae-suis und Salmonella typhimurium verursachten Salmonellose. Dafür treten gehäuft andere Salmonella-Arten wie z.B. Salmonella agona und Salmonella panama auf (SOJKA et al 1975).

Die Zahl der Salmonellosefälle bei Hund und Katze liegt zwischen 10 % (AMTSBERG und KIRPAL 1979) und 20 % (FÖRSTER et al 1974, MORSE und DUNCAN 1975). Dabei darf aber nicht vergessen werden, daß bei Tieren, die nicht der Schlachtkontrolle unterliegen, die Dunkelziffer am größten ist. Die Gefahr, die von diesen Tieren für die menschliche Gesundheit ausgeht, ist nicht zu unterschätzen, da diese Tiere in engstem Kontakt mit dem Menschen gehalten werden. Bei den Luxustieren dominiert, wie bei den Nutztieren, weltweit Salmonella typhimurium. In Deutschland

wurden zwischen 56 % (AMTSBERG und KIRPAL 1979) und 72 % (FÖRSTER et al 1974) der positiven Proben als *Salmonella typhimurium* identifiziert. In Schweden war in nahezu allen Proben *Salmonella typhimurium* (SANDSTED et al 1980). In den USA fand sich *Salmonella typhimurium* in 40 % der positiven Proben vom Hund (MORSE und DUNCAN 1975).

Beim Menschen haben Salmonellosen in den letzten Jahren ungleich stärker zugenommen als beim Tier (vgl. Abb. 2). In den letzten fünf Jahren stieg die Zahl der gemeldeten Salmonellosefälle von ca. 16 000 auf fast 37 000 (PÖHN 1979), zum Vergleich beim Tier nur von 4 300 auf 7 300 (PIETZSCH 1979). Das Artenspektrum entspricht dem beim Tier. Mit 45 % steht 1977 *Salmonella typhimurium* an erster Stelle vor *Salmonella panama* (10 %), *Salmonella enteritidis* und *Salmonella infantis* (je 6 %) (PÖHN 1980). Diese in Deutschland erstellte Statistik deckt sich in etwa mit Angaben aus anderen Ländern (RYDER et al 1976).

3. Pathogenese

3.1. Eintrittspforte

In der Regel erfolgt die Salmonella - Infektion auf oralem Weg. Die Mehrzahl der aufgenommenen Salmonellen wird geschluckt, während ein kleiner Teil über die Mund- und Rachenschleimhaut sowie über die Mandeln resorbiert wird und in die mandibulären, retropharyngealen und cervikalen Lymphknoten gelangt (CISZAR et al 1965, 1967). Die über den Oesophagus geschluckten Salmonellen werden fast alle (bis zu 99 %) durch die Magensäure oder beim Rind durch den Pansensaft inaktiviert (COLLINS 1972, CARTER und COLLINS 1974, HALL et al 1978). Jedoch reicht bereits zweitägiges Hungern aus, um z.B. die bakterizide Wirkung des Pansensaftes aufzuheben (CHAMBERS und LYSONS 1979). Nach der Magenpassage verteilen sich die Salmonellen sehr schnell über den gesamten Darm. Die absoluten Zeiten von der oralen Aufnahme bis zur Ausbreitung im Darm sind tierartlich unterschiedlich. Bei der Maus erreichen die Erreger den Dünndarm nach 10 Minuten, den Blinddarm nach 20 Minuten und den Dickdarm nach 70 Minuten (RALOVICH und RAUSS 1969). Beim Kalb kann man frühestens nach 30 Minuten im distalen Ileum Salmonellen nachweisen (HARTMANN et al 1973, 1974). Am schnellsten, nämlich innerhalb von 5 Minuten, gelangen die Salmonellen beim nüchternen Eintagesküken in den gesamten Darm (MATTHES und LÖLIGER 1976).

Die intranasale Infektion wird auf Grund des der Tierart eigenen Schnüffeln und Wühlens vorwiegend beim Schwein beschrieben (NAZER und OSBORNE 1977). Von Juni bis Oktober

1976 untersuchten GARG und SHARMA 396 Nasenproben, die von unter sechs Monate alten Schweinen und Kälbern stammten. Bei 2,9 % der Ferkel und 1,2 % der Kälber war die Nasenschleimhaut mit Salmonellen kontaminiert. Die intranasal aufgenommenen Salmonellen durchdringen entweder schon im Bereich der Nasenhöhle oder der Mandeln die Schleimhäute, oder sie werden in die Lunge inhaliert bzw. in den Magen abgeschluckt (BASKERVILLE und DOW 1973, BASKERVILLE et al 1973, HARTMANN et al 1974). Der Krankheitsverlauf nach intranasaler Infektion ist aber beim Kalb sehr viel leichter als nach oraler Infektion (NAZER und OSBORNE 1977).

Künstlich gelang es auch Kälber auf suprakonjunktivalem Weg zu infizieren. Über den Ductus nasolacimalis erreichen die Salmonellen die Nasenhöhle und gelangen von dort in den Pharynx, den Digestions- oder Respirationstrakt (NAZER und OSBORNE 1977).

Speziell beim Küken wird die intrakloakale Infektion beschrieben (TURNBULL und RICHMOND 1978). Im Vergleich zur oralen Infektion benötigt man bei der intrakloakalen Infektion sogar wesentlich geringere Keimzahlen um eine Erkrankung auszulösen, als bei der oralen Infektion (LEANEY et al 1978).

Nach HALL (1977, 1979) und RICHARDSON (1973a) soll beim Rind auch eine diaplazentare Infektion möglich sein. Hinweise dafür ergeben sich aus der Tatsache, daß in den Organen von Kälbern, die noch keine 24 Stunden alt waren,

in Fruchthüllen und in abgestorbenen Foeten von mit Salmonellen infizierten Kühen, Salmonellen nachweisbar waren.

Infektionen über die Vagina (GIBSON 1980) und über die Haut (SANDEFUHR und PETERSON 1976) sind seltene Einzelfälle und als natürliche Eintrittspforten unbedeutend.

3.2. Vermehrung und Generalisierung

Sobald die Salmonellen nach der oralen Infektion in den Darm gelangt sind, beginnen sie sich zu vermehren. Der bevorzugte Lokalisationsort im Darm ist bei allen Tieren der Bereich des Ostium ileocaecocolicums (TANAKA et al 1976, HALL et al 1978, TURNBULL und RICHMOND 1978). In einigen Versuchen wurde nach oraler Gabe von 100 Salmonellen schon nach 12 bis 16 Stunden das Maximum von 10^5 Salmonellen pro ml Darminhalt erreicht (RUITENBERG et al 1971). Diese Zahl deckt sich weitgehend mit den Ergebnissen anderer Untersuchungen (TANAKA et al 1976, HALL et al 1978). Die Zeit bis zum Erreichen des Maximums hängt von der Infektionsdosis ab. Im Durchschnitt rechnet man aber mit etwa 12 bis 14 Stunden (CARTER und COLLINS 1974). Obwohl sich die Salmonellen auch im Caecum und Colon vermehren, kommt es im distalen Drittel des Ileums zur primären Penetration (TAKEUCHI 1967, TAKEUCHI und SPRINZ 1967, COLLINS 1972, GIANELLA et al 1973, CARTER und COLLINS 1974, CARTER et al 1975, TURNBULL und RICHMOND 1978). Da die Salmonellen zuerst das Darmepithel über den Interzellularspalt überwinden, findet man im Anfangsstadium der Infektion nur geringe Veränderungen am Darmepithel (GIANELLA et al 1973, ROUT et al 1974, WOOLCOCK 1979). Nach 2 bis 4 Stunden post infectionem penetrieren die Keime die Darmschleimhaut auch über die Epithelzellen des distalen Ileums, des Caecums und des Colons (GIANELLA et al 1973, TURNBULL und RICHMOND 1978). Die Bakterien dringen durch den Bürstensaum in die Epithelzellen ein, und zwar werden sie zunächst von pleomorphen Evaginationen an der Epithelzelloberfläche umschlossen und dann erst in das Zytoplasma aufgenommen (TAKEUCHI 1967,

TAKEUCHI und SPRINZ 1967, GIANELLA et al 1973). Die Invasion findet in der Regel im distalen Drittel der Darmzotten statt, nur bei etwa 5 % der Zotten dringen die Keime über das Epithel an der Zottenbasis ein (WOOLCOCK 1979). Im späteren Stadium der Persorption kommt es zu erheblichen morphologischen Veränderungen, vor allem zu starken Epithelablösungen (Mc CAUGHEY et al 1971, RUITENBERG et al 1971). Die Salmonellen vermehren sich im Epithel nur gering (WOOLCOCK 1979). Höhere Keimzahlen werden in der Lamina propria der Mukosa erreicht (TANAKA et al 1976, COLLINS und CARTER 1978). Von den Salmonellen in der Mukosa gelangt ein Teil der Keime wieder in das Darmlumen zurück (HARTMANN et al 1973, TANAKA et al 1976), während der andere Teil über das Lymphgefäßsystem zu den regionären Lymphknoten wandert. Über den weiteren Fortgang der Infektion entscheidet die Stärke der Vermehrung. Bei geringen Infektionsdosen und teilweise immunen Tieren kann die Vermehrung lokal auf den Intestinaltrakt begrenzt bleiben (PARDON und MARLY 1979). Dabei stellt sich eine Art Gleichgewicht zwischen der Vermehrungsrate und den Abwehrmechanismen ein (RALOVICH und RAUSS 1969). In den meisten Fällen kommt es zu einer massiven Vermehrung der Salmonellen und zu einer Generalisierung. Dabei treten die Salmonellen von den Peyerschen Platten und den Lymphknoten, in denen sie sich weiter vermehren (nach 24 Stunden 10^4 Salmonellen) (HARTMANN et al 1973, COLLINS und CARTER 1978), in die Blutgefäße über und überschwemmen den gesamten Organismus (TAKEUCHI 1967, TAKEUCHI und SPRINZ 1967, GIANELLA et al 1973, CARTER et al 1975, TURNBULL und RICHMOND 1978, WOOLCOCK 1979). Bis zum Auftreten der Salmonellen im Blut

vergehen beim nüchternen Eintagesküken 5 Minuten (MATTHES und LÖLIGER 1976). Bei den anderen Tieren werden nach 15 Minuten zum ersten Mal Salmonellen im Blut gefunden (HART-MANN et al 1974).

Nach intranasaler Infektion vermehrt sich ein Teil der Salmonellen in der Nasen- und Rachenschleimhaut, vor allem aber in den Mandeln (BASKERVILLE und DOW 1973), den retropharyngealen und cervikalen Lymphknoten (NAZER und OSBORNE 1977). Die übrigen Salmonellen werden in die kleinen Lungenwege inhaliert. Während sich die Bakterien auf die interalveolären Septen verteilen, werden sie von Makrophagen aufgenommen, in denen sie sich auch vermehren können. Mit den Makrophagen migrieren sie zu den Lymphgefäßen, wo die meisten Phagenzellen degenerieren. Die freiwerdenden Salmonellen infizieren die bronchialen Lymphknoten. Einige Bakterien gelangen auch direkt in die Blutkapillaren (BASKERVILLE und DOW 1973, BASKERVILLE et al 1973). 24 Stunden post infectionem werden nach intranasaler Infektion regelmäßig Salmonellen im Herzblut nachgewiesen (NAZER und OSBORNE 1977).

3.3. Organmanifestation

Nachdem die Salmonellen in die Blutbahn eingebrochen sind, wird der ganze Organismus überschwemmt. In diesem Stadium findet man in allen Organen Salmonellen. Der Zeitpunkt des Auftretens der Keime in den Organen hängt von der Infektionsdosis und von der Tierart ab. Bei nüchternen Eintagesküken, bei denen bereits 5 Minuten nach oraler Infektion der ganze Darm mit Salmonellen besiedelt ist, finden sich nach weiteren 25 Minuten die Erreger im Herz und in der Leber (MATTHES und LÖLIGER 1976). Bei älteren Hühnern beträgt diese Zeitspanne dagegen ca. 24 Stunden (BROWN et al 1975, 1976a). Bei der Maus sind 20 Minuten nachdem im Darm Salmonellen nachgewiesen werden, diese Keime in der Leber und der Milz (RALOVICH und RAUSS 1969, COLLINS 1972, COLLINS und CARTER 1974, CARTER und COLLINS 1978). Beim Rind findet man im Anschluß an eine orale Infektion erst nach 18 Stunden Salmonellen in der Leber, nach 24 Stunden in der Niere und erst nach 36 Stunden in der Milz, Lunge und eventuell in den Gelenken (HALL 1973, HARTMANN et al 1973, 1974). Für das Schwein gelten in etwa die Zeiten des Rindes. Ungefähr 24 Stunden post infectionem können Salmonellen aus der Leber, Niere und Milz isoliert werden (LAWSON und DOW 1965).

Der zeitliche Ablauf der intranasalen Infektion entspricht in etwa der oralen Infektion. 24 Stunden post infectionem lassen sich Salmonellen aus dem Herzblut isolieren (NAZER und OSBORNE 1977). Genaue Angaben über die Organkontamination fehlen.

Eine besondere Stellung nehmen die zur Gruppe der Verwerfenserreger gehörenden Salmonellen ein. An erster Stelle

dieser Salmonellen, die eine charakteristische Affinität zum Uterus und der Plazenta haben, steht Salmonella dublin (HINTON 1971a). Frühestens 6 Stunden nach oraler Infektion sind die Erreger in dem trächtigen Uterus und der Plazenta, die sie auf dem Blutweg erreichen (HALL 1973, HARTMANN et al 1973, 1974). Über die Plazenta dringen die Salmonellen in den Foetus ein (RICHARDSON 1973a, HARTMANN et al 1974, HALL und JONES 1977, 1979, PARDON und MARLY 1979).

Nach Überstehen der Krankheit persistieren die Salmonellen noch einen gewissen Zeitraum im Organismus. Über die Dauer liegen bisher sehr widersprüchliche Ergebnisse vor. Die Salmonellen halten sich im Darm vorwiegend im Bereich des Ostium ileocaecocolicums und in den mesenterialen Lymphknoten auf (ROBINSON und COHEN 1968, SADLER et al 1969, Mc CAUGHEY et al 1971b, TANAKA et al 1976, NARUCKA und WESTENDORP 1977). Bei einer Untersuchung von 40 gesunden Schweinen waren 45 % Salmonellenträger. Dabei hatten 7,5 % Salmonellen nur im Darmlymphknoten, 25 % im Intestinum, und 12,5 % im Darm und im Lymphknoten (KATSUBE et al 1973). Bei 1,5 % von 427 Schlachtrindern wurden während der Stall- und Weidezeit Salmonellen im Pansen nachgewiesen (EDEL und SCHIPPER 1969).

In Abhängigkeit vom klinischen Verlauf werden neben dem Darm und den mesenterialen Lymphknoten auch Organe besiedelt. Von den Organen sind die Leber, die Gallenblase, die Milz und die Niere bevorzugte Lokalisationen (LAWSON und DOW 1965, Mc CAUGHEY et al 1971b, TIMBS et al 1974, NARUCKA und WESTENDORP 1977). In seltenen Fällen können bei der bakteriologischen Untersuchung von an tödlicher

Salmonellose erkrankten Tieren Salmonellen auch im Gelenk (STEINHAGEN und FRITZSCHE 1969, VOLKMAN und COLLINS 1975, 1976), Gehirn (STUART et al 1973, SMITH et al 1979), Lunge (THOMPSON und WRIGHT 1969, CARTER et al 1975, NAZER und OSBORNE 1977) und Knochenmark gefunden werden (KRUM et al 1977).

4. Ausscheidung

Nach der Infektion scheiden die Tiere die Salmonellen hauptsächlich über den Kot aus. Daneben kann man die Erreger noch im Urin, im Vaginalsekret, in der Milch und vereinzelt im Speichel finden.

Der Zeitpunkt des Auftretens der Salmonellen im Faeces lag beim Rind, nach oraler Infektion mit 10^{10} *Salmonella dublin* - Keimen, bei 16 Stunden (HALL et al 1978). Bei anderen Tierarten werden erst über den Zeitraum nach 24 Stunden Angaben gemacht. Zu diesem Zeitpunkt wurden bei allen Tieren (Schweine, Vögel und Hunde) Salmonellen im Kot gefunden (KAMPELMACHER et al 1969c, SADLER et al 1969, BROWN et al 1975, 1976a, TANAKA et al 1976).

Die Salmonellenkonzentration im Kot ist von der Challenge-dosis und dem Alter der Tiere abhängig. Sie schwankt beim Kalb nach oraler Belastung mit 10^4 bis 10^7 Keimen zwischen 10^2 und 10^5 Bakterien pro Gramm Kot (WRAY und SOJKA 1978), während bei Färsen nach oraler Gabe von 10^{10} bis 10^{11} Salmonellen maximal zwischen 10^3 und 10^6 Keime im Gramm Kot gefunden wurden (HALL und JONES 1979). 6 bis 9 Monate alte Lämmer hatten nach oraler Challenge mit 10^9 bis 10^{13} Keimen zwischen 10^4 und 10^8 Salmonellen im Gramm Kot (BROWN et al 1976b). 2 bis 3 Wochen alte Ferkel schieden nach oraler Belastung mit 10^3 bis 10^9 Salmonellen 10^3 Keime pro Gramm Kot aus, dagegen konnte bei 8 bis 10 Wochen alten Schweinen nur 0,2 Salmonellen aus dem Gramm Kot isoliert werden (KAMPELMACHER et al 1969c).

Wie der Salmonellengehalt, so hängt auch die Dauer der Ausscheidung mit dem Kot von der Challengedosis und dem Alter der Tiere ab. In einem Versuch bekamen 4, 20 und 100 Tage alte Ratten oral zwischen 10^2 und 10^8 *Salmonella typhimurium* - und *Salmonella dublin* - Keime verabreicht. Die jüngsten Tiere schieden auch nach niedrigster Dosierung über 8

Monate Salmonellen aus. Die 20 Tage alten Ratten hatten nur nach maximaler Dosierung für drei Wochen Salmonellen im Kot. Anschließend waren nur noch die Kotproben einzelner Tiere "Salmonellen - positiv". Bei den ältesten Nagern konnte man nur nach Infektion mit 10^8 Salmonellen unregelmäßig Keime im Faeces nachweisen (KAMPELMACHER et al 1969a, b). Ähnliche Verhältnisse werden für das Geflügel (SADLER et al 1969, BROWN et al 1975, 1976a) und das Schwein beschrieben (KAMPELMACHER et al 1969c). Bei erwachsenen Rindern hört die Salmonellenausscheidung mit dem Kot nach 4 bis 5 Wochen auf (HINTON 1971a). Nach der Genesung kann es u.a. bei Anwesenheit von Darmparasiten (HINTON 1971a) zu einem intermittierenden oder konstanten Dauerausscheidertum kommen, das keiner zeitlichen Begrenzung unterliegt. Auch bei latent infizierten Tieren kann durch Streßeinwirkung eine Salmonellenausscheidung ausgelöst werden (BULLING 1976b).

Nach einer Nahrungsmittelinfektion bei 50 Personen hatten 39 Menschen nach 14 Tagen zwischen 10^6 und 10^8 Salmonellen im Gramm Stuhl. Erst nach 21 Wochen waren alle Kotproben "Salmonellen - frei" (KNOTHE und WIEDEMANN 1967).

Nach enteraler Infektion werden Salmonellen auch mit dem Urin ausgeschieden (Mc CAUGHEY et al 1971a, KREDEL et al 1975, BEECHAM et al 1979). Bei einem Mann wurden über die Dauer von 16 Wochen zwischen 1 und $5 \cdot 10^3$ Salmonella typhimurium pro ml Urin gefunden. Da jedoch besonders die Morgenurinproben vermehrt Salmonellen aufwiesen, waren wahrscheinlich die periurethralen Drüsen infiziert und eine Begleitzystitis vorhanden (NEUSSEL und COHNEN 1969).

Beim Rind wurden ab 5 Tage nach einem Salmonella dublin - Abort über die Dauer von 4 bis 5 Wochen Salmonellen im Vaginalsekret nachgewiesen (HINTON 1971a, 1973, 1974, THOMAS und HARBOURNE 1972).

Ohne genauere Angaben bezüglich Dauer und Konzentration wird die Salmonellenausscheidung mit der Milch beschrieben (THOMAS und HARBOURNE 1972, HARTMANN et al 1974).

Ebenfalls finden sich nur allgemeine Hinweise, die auf eine mögliche Ausscheidung von Salmonellen über den Speichel hinweisen (HALL und JONES 1979).

5. Übertragung

Salmonellenausscheidende Tiere und Menschen spielen bei der Übertragung der Salmonellen von Tier zu Tier, und von Tier zu Mensch (BULLING 1976a) und von Mensch zu Mensch (PIETZSCH 1976) die Hauptrolle. In einem Versuch infizierten sich bereits 7 Tage post expositionem nahezu 100 % der Eintagesküken, die im Stall experimentell mit 10 verschiedenen Salmonella-Spezies infizierter Eintagesküken gehalten worden waren (SNOEYENBOS et al 1969). Auch bei Rindern breitete sich eine Salmonella - Infektion innerhalb ein paar Wochen in einem Bestand aus (GUINEE et al 1967, RANKIN et al 1970, HUNTER et al 1976). Schweine stecken sich beim Wühlen und Schnüffeln im Kot salmonellenausscheidender Tiere an (NAZER und OSBORNE 1977). Hierbei wird die Krankheit auch von anderen Tierarten wie z.B. dem Rind und dem Geflügel auf das Schwein übertragen (BULLING 1976a). Bei optimaler Tierhaltung (Fütterung, Stallklima, Streß) kann eine Kontaktinfektion unterbleiben. Zum Beispiel ließ sich bei optimaler Haltung eine Salmonella typhimurium - Infektion von Kühen nicht auf gemeinsam mit ihnen gehaltene Kälber übertragen (PETERSON und COON 1968).

Bei der indirekten Übertragung spielen sowohl belebte als auch unbelebte Vektoren eine Rolle. GIBSON beschreibt mehrere Fälle einer Salmonellenübertragung durch Tierärzte. Auch über salmonellenhaltiges Abwasser und Oberflächenwasser wird die Salmonellose weiter verbreitet. Insekten, Vögel und Nagetiere nehmen die Salmonellen beim Trinken auf, erkranken zum Teil selbst und kontaminieren die Umwelt (EDEL et al 1976).

Neben den salmonellenausscheidenden Tieren sind verseuchte Futtermittel eine weitere wichtige Infektionsquelle. Eine besondere Bedeutung haben Tierkörpermehle erlangt, die als Mischfuttermittel vorwiegend in der Schweine- und Geflügelhaltung verfüttert werden (BREER 1981). Durch diese zu meist aus Entwicklungsländern importierten Futtermittel werden hauptsächlich seltene Salmonella-Arten eingeschleppt (BULLING 1976a). Mit salmonellenhaltigem Klärschlamm gedüngte Futterweiden stellen ein Reservoir der heimischen Salmonella-Spezies dar. In Versuchen konnten noch 72 Wochen nach der Düngung vermehrungsfähige Salmonellen von Pflanzen isoliert werden (HESS und BREER 1975, BREER 1981). Da vor allem Rinder ausgetrieben werden, ist für sie dies eine der wichtigsten Ansteckungsmöglichkeiten.

Eine besondere Stellung nimmt die Übertragung der Salmonellen von der Mutter auf das Neugeborene ein. Bei Muttertieren, die ständig Salmonellen ausschieden, konnte HINTON regelmäßig eine kongenitale Infektion beobachten (HINTON 1974). Trächtige Tiere übertragen die Salmonellose über die Plazenta auf die Frucht (HALL 1973, 1974, RICHARDSON 1973a). Auch während der Geburt kann sich das Neugeborene mit Salmonellen, die sich an der Vaginalschleimhaut befinden, anstecken (KRÄMER 1977). Scheidet die Mutter Salmonellen mit der Milch aus, so infiziert sich das Neugeborene beim Saugen (HARTMANN et al 1974, HALL und JONES 1979b)..

Die für den Menschen bedeutendste Infektionsquelle sind kontaminierte Lebensmittel tierischer Herkunft, vorwiegend von latent infizierten Tieren. An zweiter Stelle steht der Kontakt zu menschlichen Ausscheidern. Nur in geringem Maß, in der Regel nur bei sehr unhygienischen Verhältnissen oder bei zu innigem Kontakt mit salmonellenausscheidenden Tieren, wird die Salmonellose direkt vom Tier auf den Menschen übertragen (PIETZSCH 1976).

6. Klinik

Die durch die sogenannten "primären" Salmonellen ausgelösten Krankheitsbilder sind allgemein bekannt. Auf sie soll auch nicht näher eingegangen werden, da diese Erreger heute an Bedeutung verloren haben. So wurden z.B. *Salmonella typhi* und *Salmonella paratyphi* auf unter 1 % der Salmonellosefälle des Menschen zurückgedrängt (RAETTIG 1974).

Derzeit wird der überwiegende Teil der Salmonellosen durch die "sekundären" Salmonellen verursacht. Diese Keime sind ubiquitär verbreitet und persistieren auch in klinisch gesunden Tieren. Umweltbedingte Streßfaktoren lösen die klinische Erkrankung aus (SOERJADI et al 1979).

Damit eine Infektion zur klinischen Erkrankung führt, muß eine Mindestmenge an Salmonellen verabreicht werden. Bei oraler Aufnahme genügen je nach Virulenz der Keime und je nach Alter der Tiere, bereits 10^2 bis 10^4 Salmonellen (KAMPELMACHER et al 1969b, c, MATTHES und LÖLIGER 1976). Um schwere Symptome hervorzurufen, müssen aber höhere Dosierungen (bis zu 10^9) verwendet werden (HALL et al 1973, 1976, 1978a, 1979a, ROUT et al 1974, CARTER et al 1975, NAZER und OSBORNE 1977).

In Abhängigkeit von der Infektionsdosis variiert die Inkubationszeit. Beim Kalb beträgt sie nach oraler Belastung mit 10^7 *Salmonella dublin* -Keimen etwa 24 Stunden (HARTMANN et al 1974), bei 6 bis 9 Monate alten Lämmern nach Belastung mit 10^9 bis 10^{13} *Salmonella typhimurium* - Keimen bis 48 Stunden (BROWN et al 1976b). Nach oraler Infektion von 5 Monate alten Hunden mit 10^9 *Salmonella typhimurium* - Keimen betrug die Inkubationszeit 12 Stunden (WILLIAMS und NEWBERNE 1970).

Die sekundären Salmonellosen äußern sich immer als fieberhafte Gastroenteritis. Das Fieber erreicht Werte bis 42°C und sinkt erst wieder am 7. bis 8. Tag (WILLIAMS und NEWBERNE 1970, KREDEL et al 1975, BROWN et al 1976, NAZER und OSBORNE 1977, BEECHAM et al 1979, SMITH et al 1979a). Es gibt aber auch Fälle, in denen kein Fieber, manchmal sogar subnormale Temperaturen beobachtet werden (WENKHOFF 1973). Auch Tiere mit Durchfallerscheinungen können fieberfrei sein (OVERGOOR et al 1978).

Etwa gleichzeitig mit dem Fieberanstieg setzt profuser, wäßriger Durchfall ein (LAWSON und DOW 1965, KAMPELMACHER et al 1969c, HARTMANN et al 1974, BROWN et al 1976b, 1977, WRAY und SOJKA 1978). Bei schwerem klinischen Verlauf können dem Kot neben Blut, Fibrin und Schleim auch Schleimhautfetzen beigemischt sein (HARTMANN et al 1974, KIUPEL et al 1979, SMITH et al 1979b). Nach 10 bis 14 Tagen wird der Kot in der Regel wieder fester (ROUT et al 1974, BROWN et al 1977). Jedoch kann der Durchfall auch ohne andere klinische Symptome über 3 bis 4 Wochen weiter bestehen (BAKER 1970, MORSE und DUNCAN 1975, NAZER und OSBORNE 1977).

Im Verlauf der Erkrankung vermindert sich der Appetit der Tiere. Sie nehmen nur wenig oder gar kein Futter auf (STIEGER et al 1974, BROWN et al 1975, 1976a, HUNTER et al 1976, WRAY und SOJKA 1978). Wegen des Flüssigkeitsverlustes auf Grund des Durchfalls und des Fiebers haben die Tiere starken Durst (MORSE und DUNCAN 1975). Infolge des Durchfalls und der verminderten Nahrungsaufnahme verlieren die Tiere in den ersten 10 Tagen nach der Infektion zwischen 5 % und 30 % ihres Körpergewichtes (BROWN et al 1975, 1976a, b, KIUPEL et al 1979).

In einigen Fällen der Salmonella-Gastroenteritis werden neben entzündlichen Leber- und Milzvergrößerungen Lungenaffektionen mit Husten und blutigem oder mukopurulentem Nasenausfluß beschrieben (HARTMANN et al 1974, KREDEL et al 1975, OVERGOOR et al 1978).

Trächtige Tiere abortieren zwischen dem 4. und 7. Tag nach der Infektion. Gibt man weniger als 10^9 Salmonellen, kann der Abort ausbleiben (Mc CAUGHEY et al 1971a, THOMAS und HARBOURNE 1974, HALL und JONES 1976). Färsen sind besonders gefährdet (HINTON 1971a, 1973, 1974). In den meisten Fällen beobachtet man vor dem Abort zwei Fieberschübe. Den ersten nach dem Eindringen der Bakterien in die Blutbahn und den zweiten zum Zeitpunkt der Bakterienvermehrung in der Plazenta, unmittelbar vor dem Verwerfen. Nach dem Abort können noch mehrere Fieberschübe auftreten (HINTON 1971a, HALL und JONES 1976, HALL et al 1979b). Bei den nachfolgenden Trächtigkeiten sind Komplikationen möglich. Zum Beispiel gebaren von 23 Kühen nur zwei ohne manuelle Geburtshilfe. Bei 16 Tieren kamen tote Früchte, Retentio secundinarum oder Frühgeburt vor (RICHARDSON 1973b).

Bei Pferden verursachen die Salmonellen neben Septikämie, Colitis oder chronischen Durchfall nur gelegentlich Abort (GIBBONS 1980). In einzelnen Fällen werden durch Salmonellen Laryngitis und Bronchitis ausgelöst (PICK 1970).

Die Klinik nach intranasaler Infektion unterscheidet sich von den Symptomen nach oraler Belastung. Kälber entwickelten drei Tage nach intranasaler Challenge mit $1,8 \cdot 10^8$ Salmonella dublin - Keimen eine fieberhafte Bakteriämie und eine purulente Bronchopneumonie mit erhöhter Atemfrequenz. Ab dem 5. Tag bekamen die Tiere Durchfall. Bei

niedrigerer Dosierung konnte nur Fieber festgestellt werden, das nach dem 13. Tag wieder verschwand (NAZER und OSBORNE 1977).

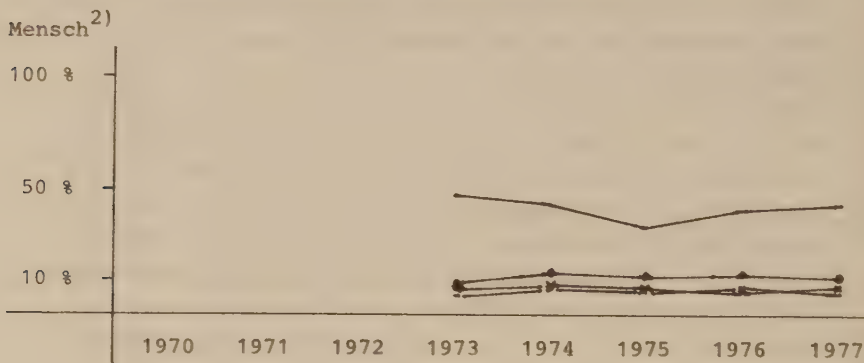
Neben diesen Verlaufsformen der Salmonellose werden in einzelnen Fällen Sonderformen beschrieben. Dringen die Salmonellen in das Gehirn ein, verursachen sie Meningoenzephalitis (STUART et al 1973). Die beobachteten Störungen des Zentralnervensystems umfassen Inkoordination, Übererregbarkeit, Muskelspasmen (STIEGER et al 1974, MORSE und DUNCAN 1975) und abnorme Kopfhaltung (BAKER 1970).

Infolge Vakuolenbildung in der Korneamembran, heterophilen Infiltrationen und serofibrinösen Exsudaten in der vorderen Augenkammer erblindeten 50 % der Hennen nach Belastung mit 10 bis 10^5 *Salmonella typhimurium* - Keimen (DWIVEDI et al 1973).

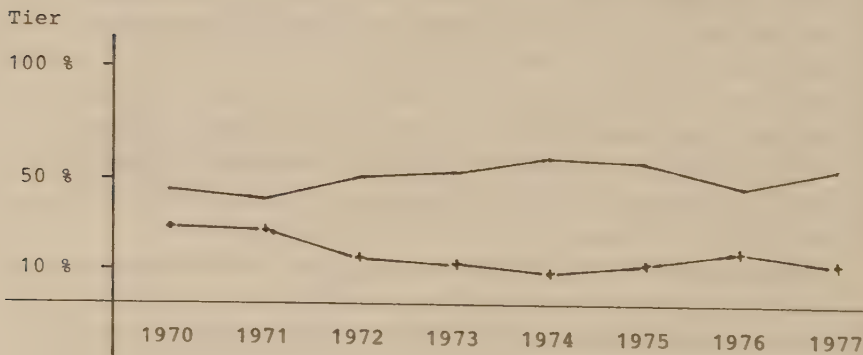
In einer Übersichtsuntersuchung Salmonellose - kranker Tiere fanden sich durch Salmonellen ausgelöste Affektionen des Urogenitaltraktes, Salpingitis, Cholezystitis, Peritonitis, Pneumonie, Pleuritis, Osteomyelitis, Endokarditis, Perikarditis und Abszesse verschiedener Lokalisationen (periproktal, perineal, subphrenisch, Gehirn, Haut, Lunge, Leber, Mittelohr) (STRAUBE 1966).

Abb.: 1

Die wichtigsten Salmonellen-Arten (Anteil über 3 %) bei Mensch und Tier in Deutschland incl. Berlin (West)¹⁾



2) Das Salmonellose-Untersuchungsprogramm läuft beim Mensch erst ab 1973



Salmonella typhimurium

Salmonella panama

Salmonella enteritidis

Salmonella infantis

Salmonella dublin

— o —
— x —
— - —
— + —

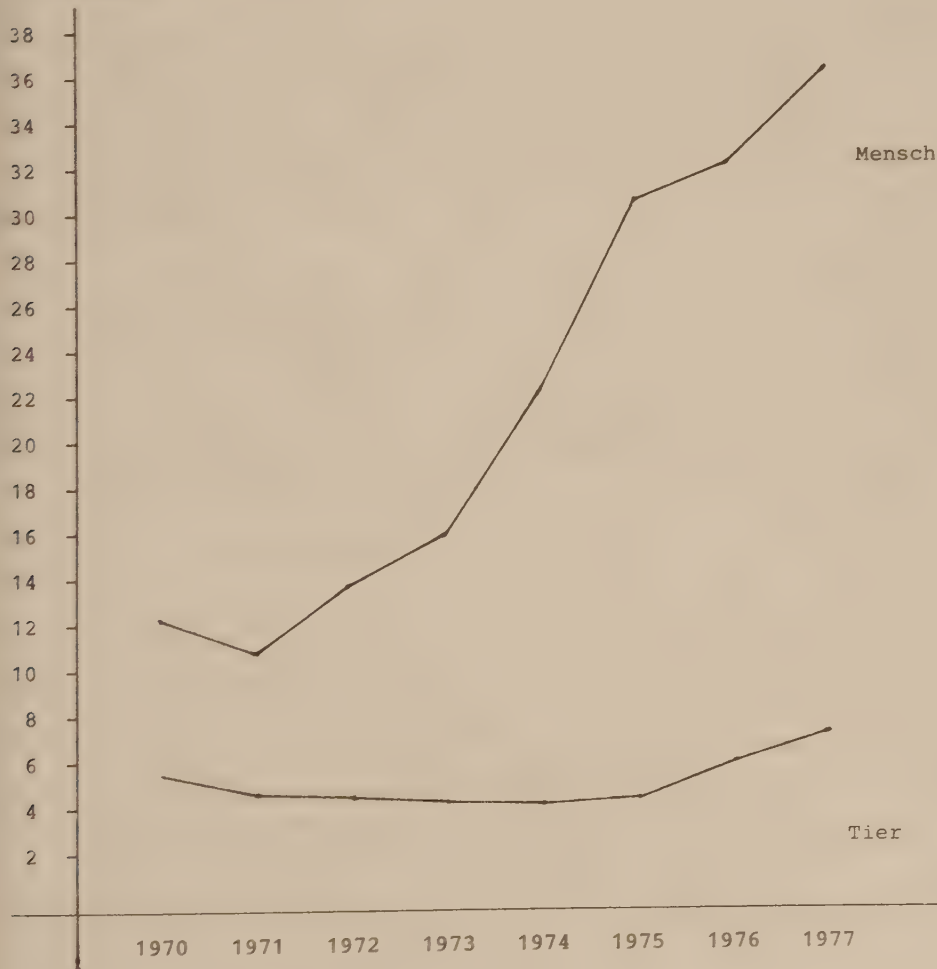
1) nach PÖHN 1975a, 1975b, 1977, 1979, 1980, PIETZSCH u. BULLING 1971, 1972, 1973, 1975, 1978, 1979

Abb.: 2

Die Salmonellen-Verbreitung bei Mensch und Tier (Rind, Kalb, Schwein und Geflügel) in Deutschland incl. Berlin (West) in den Jahren 1970 bis 1977¹⁾

Salmonellosefälle

in Tausend

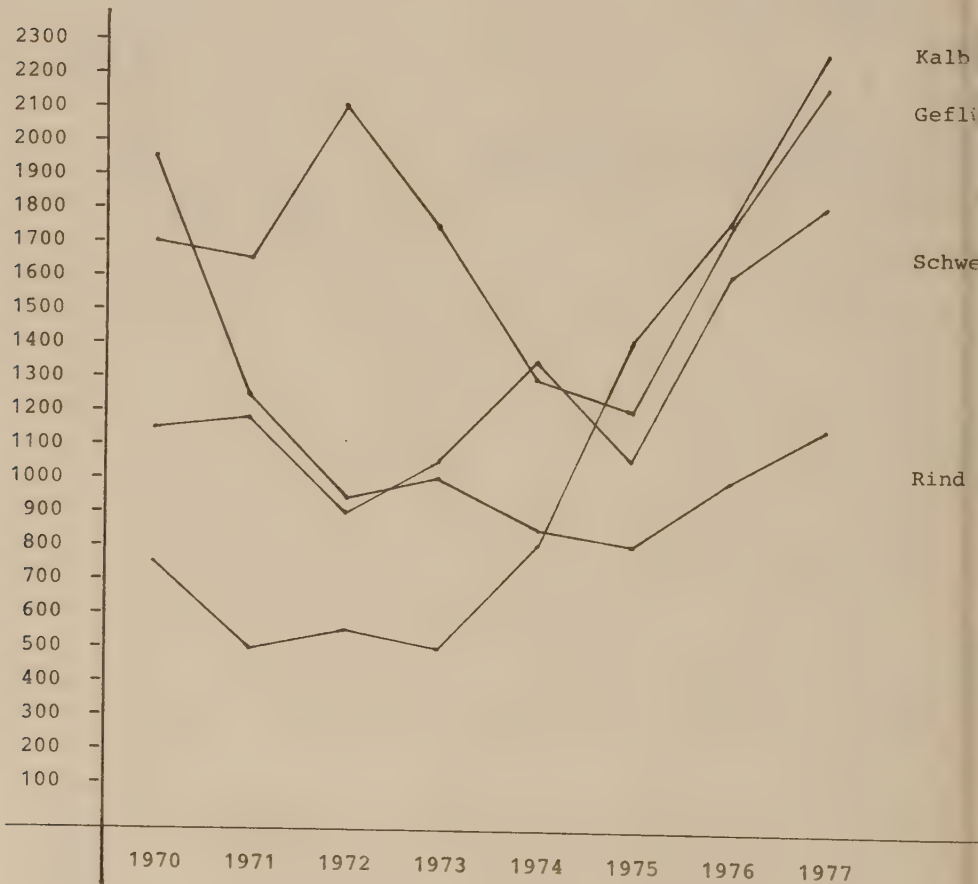


¹⁾ nach PÖHN 1979, 1980, und PIETZSCH 1979

Abb.: 3

Die Salmonellen-Verbreitung beim Tier (Rind, Kalb, Schwein und Geflügel) in Deutschland incl. Berlin (West) in den Jahren 1970 bis 1977¹⁾

Salmonellosefälle



¹⁾ nach PIETZSCH 1979

C EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1. Material und Methoden

1.1. Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten Kälber, die aus verschiedenen Zuchtbetrieben im Raum Süddeutschland stammten. Sie wurden im Alter von 14 Tagen aufgekauft und in Einzelboxen aufgestellt. Die Fütterung erfolgte mit Milchaustauscher. Heu, Kraftfutter (Kälberkorn) und Wasser standen zur freien Aufnahme zur Verfügung.

Während einer 7-tägigen Quarantänezeit wurden von den Kälbern mindestens 3 Kotproben auf Salmonellen untersucht. Nur salmonellenfreie Tiere wurden in die Versuche einbezogen.

Die Versuche wurden in Isolierstallungen durchgeführt, bei denen eine Kontamination der Umwelt durch die Versuchskeime ausgeschlossen werden konnte.

1.2. Bakterienstämme

Für die Belastung und für die Herstellung der Impfstoffe aus inaktivierten Keimen verwendeten wir den *Salmonella typhimurium* Stamm "L₁". Dieser Stamm wurde aufgrund seiner günstigen biologischen Eigenschaften (Pathogenität, Toxinbildung usw.) für die Versuche ausgewählt (HEINDL 1980). Zur Herstellung der Lebendimpfstoffe dienten die Gal-E Mutanten LT₂M₁B und SF 10248 von *Salmonella typhimurium*, die uns freundlicherweise von Prof. Germanier, Bern und Dr. Schmidt, Max Plank Institut Freiburg zur

Verfügung gestellt wurden. Die Gal-E Mutanten sind durch das Fehlen des Enzyms Uridindiphosphat-Galaktose-4-Epimerase (UDP) charakterisiert. Sie können Galaktose, die zur Synthese der Zellwandlipopolysaccharide benötigt wird, nicht selbst fermentieren. Nur bei exogener Zufuhr von Galaktose wird sie von diesen Mutanten kurzfristig eingebaut. Bei längerer Gabe von Galaktose wird diese als Galaktose-1-Phosphat und UDP-Glucose im Zytoplasma akkumuliert, was eine totale Lysis der Bakterien bewirkt. Auf diesem Mechanismus beruht die Avirulenz der Gal-E Mutanten (GERMANIER u. FÜRER, 1975).

1.3. Impfstoffherstellung

Zur Produktion der notwendigen Antigenmenge, sowohl für die Impfstoffe auf der Basis inaktivierter Keime als auch für den Lebendimpfstoff, wurde ein Fermenter (Mikroferm - Fermenter New Brunswick MF 128 S) mit einem 20 Liter fassenden Tank benutzt. Der Tank war mit Rührwerk und Bodenbelüftung ausgestattet. Als Nährmedium diente Standard I Medium (Merck). Die Beimpfung des Mediums erfolgte mit einer 18-stündigen Starterkultur. Die Animpfdosis lag bei 10^6 Keimen pro ml Fermentermedium. Die Bebrütungszeit des beimpften Mediums betrug 18 Stunden bei einer Temperatur von 37°C . In dieser Zeit wurde das Medium ständig begast (100 cc/min Luft) und gerührt (200 UpM). Danach wurde die Kultur 45 Minuten bei 3000 UpM zentrifugiert. Die Keimzahl des in etwa 2 Liter Kulturmedium aufgeschwemmten Bodensatzes schwankte zwischen 1 und $3 \cdot 10^{11}$ Keimen pro ml. Die Kontrolle der Bakteriensuspension auf Fremdkeime erfolgte mikroskopisch und kulturell.

Für die Herstellung des Impfstoffes aus inaktivierten Keimen wurde die Keimsuspension (Bodensatz) bei einer Temperatur von 100°C (Ölbad) über eine Zeit von 3 Minuten in einem geschlossenen Durchlaufsystem inaktiviert. Die inaktivierte Keimsuspension war die Grundlage der oralen und parenteralen Impfstoffe. Für einen Immunisierungsversuch wurden die Bakterien zusätzlich mit einem Sorvall Omnimixer (2 Min. bei Stufe 10) zerschlagen, um einen Aufschluß der Salmonella-Keime in die verschiedenen Antigene zu erreichen. Als Adjuvans kamen Kollidon (1 %ig und 10 %ig) für den Oralimpfstoff und Mineralöl (Fa. Duphar) für den subkutan zu verabreichenden Impfstoff zur Anwendung.

1.4. Applikation des Impfstoffes

Die orale Applikation des Impfstoffes erfolgte über die tägliche Milchration. Der Impfstoff wurde mit einem halben Liter Milch verdünnt und den Kälbern morgens zum Saufen gegeben. Die orale Impfung wurde einmal täglich an 10 aufeinanderfolgenden Tagen durchgeführt. Die Gesamtimpfdosis lag zwischen 10^{11} und 10^{12} inaktivierten Keimen, beziehungsweise zwischen 10^3 und 10^{11} lebenden avirulenten Keimen. Die subkutane und intramuskuläre Impfung wurde entweder vor oder nach der oralen Impfung vorgenommen. Die Impfdosis für die subkutane Impfung lag zwischen 10^8 und 10^{11} und für die intramuskuläre Impfung bei 10^9 und 10^{10} inaktivierten Salmonella typhimurium Keimen.

1.5. Infektionsbelastungsversuch

Die Kälber wurden am 10. Tag nach der letzten Impfung mit verschiedenen Keimzahlen des Salmonella typhimurium Stammes "L₁" oral belastet. Die Applikation der Challenge-Keime

erfolgte über die Milch. Die Keimzahl wurde mit dem Plattenverfahren bestimmt. Zur Bewertung des Impferfolges nach der oralen Belastungsinfektion wurde neben der Überlebenszeit das klinische Bild sowie die Keimzahl in Organen und Kotproben herangezogen. Die Versuche wurden 3 Wochen nach der oralen Infektion beendet.

1.6. Bakteriologische Untersuchung der Kotproben

Zur quantitativen Erfassung der über den Kot ausgeschiedenen *Salmonella typhimurium* Keime nach der Belastungsinfektion wurde täglich von jedem Tier ein Gramm einer Kotprobe in einer 10er-Verdünnungsreihe mit physiologischer NaCl-Lösung bis zur Verdünnungsstufe 10^{-8} verdünnt. Aus jedem Röhrchen brachten wir dann 0,1 ml auf eine Gassner-Platte, wo die Keimsuspension ausgespatelt wurde. Nach 18-stündiger Bebrütung im Brutschrank bei 37°C erfolgte die Auszählung der Kolonien und unter Berücksichtigung der Verdünnungsstufe die Bestimmung der Salmonellen-Keimzahl pro Gramm Kot.

1.7. Bakteriologische Untersuchung der Organproben

Die Organe entnahmen wir sofort nach der Tötung (Narcoren) der überlebenden Versuchskälber. Je Organ wurden zwei Proben von ca. 1 Gramm steril in eine Salmonellen-Anreicherungsbouillon (Tetrathionat-Brilliantgrün-Anreicherungsbouillon (Merck)) verbracht. Nach 48-stündiger Bebrütung im Brutschrank bei 37°C strichen wir 0,1 ml auf Gassner-Platten aus und bebrüteten diese über Nacht bei 37°C. Salmonellenverdächtige Kolonien wurden mittels Objektträger-Schnellagglutination mit Faktorenseren (Behring-Werke) ausgetestet.

1.8. Antikörperbestimmung

1.8.1. Serumgewinnung

Das Blut für die serologischen Untersuchungen entnehmen wir aus der Vena jugularis der Kälber. Nach der Entnahme blieben die Blutproben über Nacht bei Zimmertemperatur stehen; das sich inzwischen abgesetzte Serum wurde abpipettiert und bei 3000 UpM (Christ Cyrofuge 6 - 6) zehn Minuten zentrifugiert. Bis zur Durchführung der indirekten Hämagglutination wurde es bei -20°C aufbewahrt.

1.8.2. Indirekte Hämagglutination

Die Kälberseren wurden mittels der indirekten Hämagglutination auf das Vorhandensein von Salmonella-Antikörpern untersucht. Als Ausgangsmaterial für die Herstellung des Salmonella-Antigens dienten Abschwemmungen 18-stündiger Kulturen des Stammes "L₁" von Nähragarplatten. Diese Bakteriensuspensionen hatten einen Titer von 10^{10} Keimen pro ml. Die weitere Aufbereitung des Antigens erfolgte nach der Methode von INGRAM und MALCOMSON. Ein Volumenteil der Salmonella-suspension wurde nach einer 2-stündigen Inaktivierung im Autoklav mit 5 Volumenteilen Aceton in einem Erlenmeyerkolben gemischt, das Gemisch dann mittels Magnetrührer bis zur Koagulation gerührt und durch ein Filterpapier filtriert. Durch mehrmaliges Waschen mit Äther wurde es dann getrocknet und bei 4°C aufbewahrt. 10 ml einer Ausgangssuspension ergaben ca. 240 mg Trockensubstanz, die in Barbitalpuffer (pH 7,2) aufgelöst zur Anwendung kam (1mg Trockensubstanz pro ml Puffer).

Hammelerythrozyten (HE): Das Hammelblut wurde in Alsever-Lösung (1 Teil Alsever + 1 Teil Hammelblut) aufgefangen und im Kühlschrank gelagert. Vor dem Ansatz der Reaktion wurde das Blut 3-mal in phosphatgepufferter NaCl-Lösung (pH 7,2) gewaschen.

Zur Sensibilisierung der Erythrozyten versetzten wir 0,05 ml HE (100 %ig) mit 2,5 ml des Antigens und inkubierten zwei Stunden im Brutschrank bei 37°C. Anschließend wurden die Erythrozyten 15 Minuten bei 3000 UpM abzentrifugiert, 3 mal in phosphatgepufferter NaCl-Lösung verdünnt und 30 Minuten bei 56°C im Wasserbad inaktiviert. Zur Vermeidung einer Isoagglutination adsorbierten wir die Seren vorher mit gewaschenen HE (50 %ig) im Verhältnis 1 : 10 eine halbe Stunde bei 37°C. Zu jeder Verdünnungsstufe pippetierten wir 0,3 ml sensibilisierte HE. Unter gelegentlichem Aufschütteln wurde das Reaktionsgemisch 2 Stunden bei 37°C im Brutschrank inkubiert und über Nacht bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Am nächsten Morgen erfolgte die Ablesung der Reaktion makroskopisch. Als Endtiter wurde diejenige Verdünnungsstufe des Serums bestimmt, bei der eine Hämagglutination mit bloßem Auge noch deutlich sichtbar war.

2. Ergebnisse

2.1. Unschädlichkeitsuntersuchungen

Für die Beurteilung der Unschädlichkeit der verwendeten Salmonella-Vaccinen diente beim Kalb die Gewichtsentwicklung als objektiver Parameter. In der Tabelle 1 sind zunächst die mittleren Gewichtszunahmen von den mit Impfstoffen auf der Basis inaktivierter Keime geimpften und entsprechend nicht geimpften Kälber während der zehntägigen oralen Impfperiode zusammengefaßt.

Wie aus der Tabelle ersichtlich ist, hängt das Ergebnis im wesentlichen von der Impfdosis ab. Bei der täglichen Dosis von $3 \cdot 10^{12}$ inaktivierten Keimen war die Gewichtsentwicklung der immunisierten und nicht immunisierten Tiere praktisch gleich. Bei der 10-fach niedrigeren Dosis (einmal täglich $3 \cdot 10^{11}$ inaktivierte Keime), nahmen die geimpften Kälber dagegen um 2,7 kg mehr zu als die Kontrolltiere. Wurde die gleiche Dosis zweimal täglich (morgens und abends) verabreicht, betrug der Gewichtsvorsprung der geimpften Kälber nur noch 1,8 kg.

Überraschend war das Ergebnis mit dem Kollidon-Impfstoff. Ein Zusatz von 10 % Kollidon zum Salmonella-Impfstoff verhinderte eine Gewichtszunahme im Immunisierungszeitraum, während die Kontrolltiere im gleichen Zeitraum um 4,5 kg zunahmen. Dieses Ergebnis ist deshalb besonders interessant, weil diese Kälber keinerlei klinische Anzeichen einer Erkrankung, also weder Temperaturerhöhung, Apathie, Appetitlosigkeit usw. zeigten. Dieses Phänomen trat nicht auf, wenn nur 1 % Kollidon dem Oralimpfstoff zugesetzt wurde. In dieser Gruppe war die Zunahme wie beim Impfstoff ohne

Kollidon um ca. 2,3 kg besser als bei den Kontrolltieren. Auch nach Verwendung des Oralimpfstoffes aus "gemixten" Salmonellen war die Gewichtszunahme der Impflinge um 2,5 kg höher als bei den Kontrolltieren.

Die alleinige orale Impfung mit hitzeinaktivierten Salmonellen hatte bei normaler Dosierung (bis ca. 10^{11} Keime pro Tag) einen günstigen Einfluß auf die Entwicklung der Impflinge. Man kann also annehmen, daß der Impfstoff zumindest für das Kalb unschädlich ist. Bei Überdosierung (mehr als 10^{12} Keime täglich) wurde dieser "Masteffekt" der oralen Impfung nicht beobachtet.

Das Ergebnis der Unschädlichkeitsprüfung bei dem Lebendimpfstoff LT₂M₁B ist in Tabelle 2 zusammengefaßt. Der Impfstoff wurde in unterschiedlicher Dosierung (von 10^6 bis 10^2) über 10 Tage oral verabreicht. Schon aus den Gewichtszunahmen während der Impfperiode ist ersichtlich, daß dieser Impfstoff nicht als unschädlich bezeichnet werden kann. Bei jeder Dosierung lag die Gewichtszunahme der Impflinge deutlich unter der der Kontrolltiere. Der Gewichtsunterschied lag in der Regel bei ca. 2 kg.

Bei der klinischen Prüfung der Impflinge stellten wir in allen Fällen einen ca. 2-tägigen Fieberanstieg fest. Bis auf die nur mit 10^2 avirulenten Keimen geimpften Kälber zeigten alle anderen Impflinge mehr oder minder starken Durchfall, der zwischen 2 und 4 Tage andauerte. Das klinische Bild entsprach etwa dem bei einer milden Erkrankung mit einem virulenten Salmonella typhi-murium Stamm.

Die Ausscheidung des Impfkeimes betrug etwa 14 Tage und war von der Impfdosis unabhängig.

2.2. Infektionsbelastungsversuch

Die im Infektionsbelastungsversuch geprüften Impfstoffe bzw. Impfverfahren lassen sich in 4 Gruppen einteilen: a) orale Impfung mit Impfstoffen aus inaktivierten Keimen, b) orale und parenterale Impfung mit Impfstoffen aus inaktivierten Erregern, c) orale Impfung mit lebenden avirulenten Erregern, und d) orale Impfung mit lebenden avirulenten Keimen kombiniert mit parenteraler Impfung mit inaktivierten Keimen.

Als wichtigster Parameter für die Bewertung der Infektionsbelastungsversuche galt der Unterschied der mittleren Überlebenszeit von geimpften und nicht geimpften Tieren. In der Tabelle 3 sind die mittleren Überlebenszeiten von oral mit verschiedenen Impfstoffdosen und Impfstoffen geimpften und nicht geimpften Kälbern bei unterschiedlichen Infektionsdosen zusammengefaßt.

Wie aus der Tabelle ersichtlich wird, überlebten die mit der höchsten Impfdosis ($10 \times 3 \cdot 10^{12}$ inaktivierte Keime) geimpften Kälber die Belastungsdosen länger als die nicht geimpften Kälber. Deutliche Unterschiede konnten wir aber nur in den Belastungsbereichen von 5 bis $2 \cdot 10^8$ feststellen. Eine Belastung mit $5 \cdot 10^8$ überlebten die Impflinge mehr als doppelt so lange als die nicht geimpften Kälber. Die Belastung mit $2 \cdot 10^8$ überlebten nur die Impflinge, während die Kontrolltiere nach 165 Stunden starben.

Eine Erniedrigung der Impfdosis um den Faktor 10 (einmalige Impfung) bzw. 5 (zweimalige Impfung) verschlechterte das Immunisierungsergebnis nicht. Die Unterschiede in den Überlebenszeiten zwischen Impflingen und Kontrolltieren lagen in der Größenordnung wie bei der höheren Impfdosis.

Dieses Immunisierungsergebnis ließ sich durch Zusatz von Kollidon zum Impfstoff nicht verbessern. Auch die Verwendung eines Impfstoffes, bei dem die Salmonellen vor der Hitzeinaktivierung durch einen Omnimixer aufgeschlossen wurden, brachte keine Verbesserung dieses Immunisierungsergebnisses.

Die reine Betrachtung der Überlebenszeiten von geimpften und nicht geimpften Kälbern zeigte ein relativ günstiges Ergebnis für die orale Immunisierung. Dieser Unterschied wurde aber nicht deutlich, wenn man die klinische Seite nach der Belastung zum Vergleich heranzog. Unabhängig davon, ob die Kälber geimpft oder nicht geimpft waren und interessanterweise unabhängig von der Überlebenszeit stieg bei allen Tieren post infectionem die Körpertemperatur an. Die Fieberreaktion war nur bei den Impfingen, die überlebten, um einen Tag verzögert. Ebenso beobachteten wir bei allen mit den Impfstoffen aus hitzeinaktivierten Keimen geimpften Kälber, gleichgültig wie lange sie überlebten, Durchfall, der mindestens 3 Tage anhielt. Ein Zusammenhang zwischen Stärke des Durchfalls und Überlebenszeit war nicht festzustellen.

Der schnelle Fieberanstieg nach der Testinfektion weist darauf hin, daß die Salmonella typhimurium Infektion beim Kalb nicht nur lokal auf den Darm beschränkt bleibt, sondern daß die Salmonella typhimurium Infektion als Allgemeininfektion abläuft. Nachdem es nicht möglich war, mit einer Schluckvaccine aus hitzeinaktivierten Keimen Kälber vor einer Salmonella typhimurium Infektion vollkommen zu schützen, untersuchten wir im nächsten Schritt die Wirksamkeit einer parenteralen Impfung, um Aufschluß über die Bedeutung der systemischen Immunität bei der Abwehr

von *Salmonella typhimurium* Infektionen zu bekommen. Die Ergebnisse von 3 Versuchsreihen, in denen Kälber oral und parenteral allein kombiniert oral und parenteral immunisiert wurden, sind in Tabelle 4 zusammengestellt.

Beim Vergleich der mittleren Überlebenszeiten wird ersichtlich, daß das Immunisierungsergebnis der alleinigen oralen Immunisierung durch die parenterale Boosterimpfung deutlich verbessert werden konnte. Die Überlebenszeiten der erst oral und dann parenteral (subkutan / intramuskulär) geimpften Tiere war zweieinhalbmal so lang wie die der nur oral geimpften Kälber bzw. fast dreimal so lang wie die der Kontrolltiere (Versuchsreihe I). Wurden die Kälber parenteral geimpft, so verschlechterte sich das Immunisierungsergebnis gegenüber der alleinigen oralen Impfung (Versuchsreihe II und III). Dieser Unterschied wurde besonders in Versuch II deutlich. Hier überlebten z.B. die nur oral geimpften Tiere die Challenge mit $2 \cdot 10^8$ *Salmonella typhimurium* Keimen, während die kombiniert geimpften Tiere im Durchschnitt nach 295 Stunden post infectionem starben.

Im direkten Vergleich der beiden Immunisierungsmethoden war die orale Immunisierung der parenteralen Impfung in der Wirksamkeit überlegen (Versuch II). Die nur subkutan und intramuskulär geimpften Kälber verendeten nach Belastung mit $2 \cdot 10^8$ Keimen im Durchschnitt nach 144 Stunden, während alle oral geimpften Tiere diese Challengedosis überlebten.

Im Versuch III haben wir gleichzeitig mit Beginn der oralen Impfung die Tiere subkutan geimpft. Auch dieses Immunisierungsschema trug nicht zur Verbesserung des Immunisierungsergebnisses der alleinigen oralen Impfung bei.

Auf den klinischen Verlauf hatte die kombinierte Impfung keinen Einfluß. Der Durchfall und die Fieberreaktion dauerten genauso lange wie bei den nur oral geimpften Tieren, und zwar lagen die Zeiten bei 96 Stunden (Durchfall) und 48 - 72 Stunden (Fieber).

Bedingt durch die bisher nicht ganz zufriedenstellenden Ergebnisse mit den "inaktivierten" *Salmonella typhimurium* - Vaccinen unternahmen wir auch Versuche mit Lebendvaccinen. Am meisten Erfahrungen an anderen Modellen liegen bisher mit Gal-E Mutanten vor. Für unsere Versuche wählten wir die *Salmonella typhimurium* Gal-E Mutanten LT₂M₁B und SF 10248 aus. Der Unterschied beider Mutanten beruhte auf der Enterotoxinbildung. LT₂M₁B hatte noch mittelgradige enterotoxische Aktivitäten. Der Stamm SF 10248 war dagegen im Darmligatur-Test negativ. In Tabelle 5 sind die mittleren Überlebenszeiten post infectionem bei unterschiedlichen Impfstoffdosen zusammengefaßt.

Bei der Beurteilung der Lebendvaccinen darf auf keinen Fall die Impfreaktion außer acht gelassen werden. Die Impfreaktionen (Fieber, Durchfall) nehmen mit fallender Impfstoffdosis ab. Die stärkste Impfreaktion, aber auch das beste bisherige Impfergebnis stellten wir nach einmaliger Impfung mit ca. 10^{10} Gal-E Mutanten fest. Nach der Belastung starben die Kontrolltiere im Durchschnitt nach 72 Stunden, während die Impflinge, ohne klinische Veränderungen zu zeigen, die Challenge überlebten. Bei den niedrigeren Impfdosen (10^6 bis 10^2) traten zwar keine so heftigen Impfreaktionen mehr auf, obwohl wir den Impfstoff an 10 aufeinanderfolgenden Tagen verabreichten, jedoch

war auch das Immunisierungsergebnis wesentlich schlechter. Die mit 10^6 avirulenten Keimen geimpften Kälber überlebten die Challenge, hatten aber post infectionem wie die mit inaktivierten Keimen geimpften Kälber starken Durchfall und Fieber. Nach 10maliger Impfung mit $3 \cdot 10^4$ und $1 \cdot 10^2$ avirulenten Keimen war in den Überlebenszeiten kein Unterschied zwischen Impfingen und Kontrolltieren festzustellen.

Die relativ starken Impfreaktionen der Mutante LT_{2M_1B} waren möglicherweise darauf zurückzuführen, da dieser Impfstamm noch relativ starke enterotoxische Aktivitäten besaß. Wir bezogen deshalb in unsere Impfversuche den Gal-E Stamm SF 10248 mit ein, der beim Darmligaturtest keine enterotoxische Aktivitäten aufwies. Aber auch nach Verabreichung dieses Stammes traten in den hohen Impfdosen, in denen er wirksam war, Durchfall und Fieber bei den Impfingen auf, obwohl wir den Stamm nur an 3 Tagen applizierten. In den Dosisbereichen, in denen wir keine Impfreaktion feststellten, blieb die orale Impfung wirkungslos.

Bei der Impfung mit inaktivierten Keimen ließ sich das Immunisierungsergebnis durch die subkutane Boosterimpfung wesentlich verbessern. Wir untersuchten deshalb auch die Wirksamkeit der kombinierten oralen Impfung mit einem Lebendimpfstoff. Für die subkutane Impfung verwendeten wir einen Impfstoff auf der Basis hitzeinaktivierter Keime. Einen Überblick über diese Ergebnisse vermittelt Tabelle 6.

Die Ergebnisse beweisen, daß auch die Wirksamkeit der Lebendimpfung durch eine parenterale Boosterimpfung verbessert werden konnte. Am deutlichsten war der Unterschied bei der Tiergruppe, die oral mit $10 \cdot 10^6$ avirulenten Keimen geimpft wurde. Die kombiniert geimpften Tiere erkrankten nicht und überlebten die Challenge. Die nur oral geimpften Tiere starben 134 Stunden nach der Challenge, also nur unwesentlich nach den nicht geimpften Kontrolltieren. Wichtig für die Beurteilung dieses Immunisierungsergebnisses ist die Tatsache, daß bei der oralen Dosis von 10^6 Keimen des Gal-E Stammes SF10248 bis auf einen kurzen Fieberanstieg keine Impfreaktionen beobachtet wurden.

2.3. Antikörperuntersuchung

Bei den Antikörperuntersuchungen interessierten uns zwei Fragen, nämlich einmal die Frage nach der Höhe der postvaccinalen Antikörpertiter vor der Challenge und zweitens die Frage nach der Korrelation zwischen Antikörpertiter und mittlerer Überlebenszeit nach der Challenge. Die Ergebnisse der serologischen Untersuchungen der verschiedenen Impfgruppen sind in Tabelle 7 zusammengestellt.

Bei allen Kälbern, die wir in den Versuch nahmen, waren vor der Immunisierung keine Antikörper in der indirekten Hämagglutination nachweisbar. Die Ergebnisse der Immunisierung können wir in zwei Reaktionstypen unterteilen. Kälber, die nur oral immunisiert wurden, und zwar gleichgültig, ob mit inaktivierten oder lebenden avirulenten Keimen immunisiert wurden, verzeichneten keinen oder nur einen sehr geringen (bis zu 1:8) Antikörpertiter. Der

höchste Titer (1 : 20) wurde oral mit gemixten aufgeschlossenen Keimen erzielt. Deutlichere Antikörperanstiege waren nur nach alleiniger parenteraler oder kombinierter oraler und parenteraler Immunisierung festzustellen. Eine Ausnahme bildete die Tiergruppe, die nach der oralen Immunisierung nur einmal subkutan geboostert wurde. Hier lag der Titer bei 1 : 12, im Gegensatz zu den 1 : 64 bis 1 : 128 bei den Kälbern mit zweimaliger parenteraler Impfung.

Wenn man nun die Antikörpertiter vor der Belastung mit den mittleren Überlebenszeiten nach der Belastung vergleicht, so fällt auf, daß keine Übereinstimmung besteht. Die Höhe des Agglutinationstiters vor der Challenge sagte nichts über die Überlebenschancen der geimpften Tiere aus. Kälber mit den höchsten postvaccinalen Antikörpertitern (1 : 64 bis 1 : 128) starben nach der Belastung mit $1,5 \cdot 10^8$ Keimen, während andere Tiere mit Titern um 1 : 12 und 1 : 20 diese Challengedosis überlebten.

Überraschend ist, daß die mit dem Lebendimpfstoff oral geimpften Kälber, selbst nach der höchsten Dosis, keine Antikörper post vaccinationem ausbildeten. Trotzdem waren diese Tiere gegen die stärkste Challengedosis ($6 \cdot 10^9$) geschützt.

Tab. 1: Mittlere Gewichtszunahmen von oral mit inaktivierten
S. typhimurium-Keimen geimpften und nicht geimpften
Kälbern während der Impfperiode

Impfstoff	Impf- dosis	Adjuvans	Applikations- modus	mittlere Gewichtszu- nahmen (in kg)	
				Impflinge (n)	Kontrolle (n)
hitzeinakt.	$3 \cdot 10^{12}$	-	morgens über 10 Tage	8,2 (11)	8,4 (12)
Salmonellen	$3 \cdot 10^{11}$	-	morgens über 10 Tage	7,9 (9)	5,2 (11)
			morgens und abends über 10 Tage	5,8 (2)	4 (2)
hitzeinakt. Salmonellen	$3 \cdot 10^{11}$	Kollidon 10 %	morgens über 10 Tage	0 (2)	4,5 (2)
		Kollidon 1 %	morgens über 10 Tage	7,2 (2)	4,0 (2)
gemixte ¹⁾ und hitzeinakt. Salmonellen	$3 \cdot 10^{11}$	-	morgens über 10 Tage	12 (6)	9,5 (4)

1) Sorvall Omnimixer 2 Min. bei Stufe 10

Tab. 2: Mittlere Gewichtszunahmen von oral mit lebenden, avirulenten S. typhimurium-Keimen geimpften und nicht geimpften Kälbern während der Impfperiode

Impfstoff	Impfdosis	Applikationsmodus	mittlere Gewichtszunahmen (in kg)	
			Impflinge (n)	Kontrollen (n)
Gal-E Mutante LT ₂ ^M ₁ B	$4,5 \cdot 10^6$	einmal täglich über 10 Tage	7,5(2)	9,8(3)
	$2,1 \cdot 10^6$		8,7(2)	9,8(3)
	$3,0 \cdot 10^4$		3,8(6)	5,1(2)
	$1,0 \cdot 10^2$		6,9(2)	9,8(3)

Tab. 3: Mittlere Überlebenszeit von oral mit inaktivierten S. typhimurium-Keimen geimpften und nicht geimpften Kälbern nach oralem Challenge mit S. typhimurium-Keime

Impfstoff	Adjuvans	Impfdosis	Belastungs- dosis	mittlere Überlebens- zeit (in Stunden)	
				Impflinge	Kontrollen
hitzeinakt. Salmonellen		3.10 ¹² einmal täglich über 10 Tage	1,5.10 ¹¹	50	30
			1,5.10 ¹⁰	48	46
			5 .10 ⁹	70	42
			5 .10 ⁸	148	62
			2 .10 ⁸	∞ ²⁾	165
			2 .10 ⁷	∞	∞
hitzeinakt. Salmonellen		3.10 ¹¹ einmal über 10 Tage	1 .10 ¹⁰	96	96
			5 .10 ⁹	60	42
			5 .10 ⁸	126	62
			2 .10 ⁸	∞	205
		3.10 ¹¹ zweimal täglich über 10 Tage	1 .10 ¹⁰	96	96
hitzeinakt. Salmonellen	Kollidon 10 %	3.10 ¹¹ einmal täglich	1 .10 ¹⁰	96	96
	Kollidon 1 %	über 10 Tage	1 .10 ¹⁰	84	72
gemixte ¹⁾ und hitzeinakt. Salmonellen		3.10 ¹¹ einmal täglich über 10 Tage	2 .10 ⁸	∞	120

1) Sorvall Omnimixer 2 Min. Stufe 10

2) ∞ = überlebt

Tab. 4: Mittlere Überlebenszeit von oral und parenteral mit inaktivierten S. tyhimurium-Keimen geimpften und nicht geimpften Kälbern nach oraler Infektion mit S. typhimurium-Keimen

	Immunisierungsschema	Belastungs- dosis	mittlere Überlebens- ¹⁾ zeit (in Stunden)	
			Impflinge	Kontrollen
I	oral + subkutan + intramuskulär 1.-10. Tag 8. Tag 22. Tag	$5 \cdot 10^9$	205	72
	oral 1.-10. Tag		84	
II	subkutan + oral + intramuskulär 1. Tag 8.-17. Tag 22. Tag	$2 \cdot 10^8$	295	96
	subkutan + intramuskulär 1. Tag 22. Tag		144	
	oral 8.-17. Tag		∞	
III	subkutan + oral 1. Tag 1.-10. Tag	$6 \cdot 10^8$	108	62
	oral 1.-10. Tag		120	

¹⁾ pro Gruppe 3 Tiere
∞ = überlebt

Tab. 5: Mittlere Überlebenszeit von oral mit lebenden avirulenten S. typhimurium-Keimen geimpften und nicht geimpften Kälbern nach oraler Belastung mit S. typhimurium-Keimen

Impfstoff	Impfdosis	Belastungs- dosis	mittlere Überlebenszeit (in Stunden)	
			Impflinge	Kontroll
Gal-E Mutante LT ₂ M ₁ B	1 x 1,2.10 ¹⁰	6 . 10 ⁹	∞	72
	10 x 4,5.10 ⁶	2 . 10 ⁸	∞	138
	10 x 2,1.10 ⁶	2 . 10 ⁸	∞	
	10 x 3 .10 ⁴	2 . 10 ⁸	142	
	10 x 1 .10 ²	2 . 10 ⁸	112	
Gal-E Mutante SF 10248	3 x 1 .10 ¹⁰	3 . 10 ⁸	∞	110
	3 x 1 .10 ⁸	3 . 10 ⁸	∞	
	3 x 1 .10 ⁶	3 . 10 ⁸	134	
	3 x 1 .10 ⁴	3 . 10 ⁸	86	

∞ = überlebt

Tab. 6: Mittlere Überlebenszeit von oral mit lebenden avirulenten, und parenteral mit inaktivierten S. typhimurium-Keimen geimpften und nicht geimpften Kälbern nach oraler Belastung mit S. typhimurium-Keimen

Immunisierungsschema	Impfstoff	mittlere Überlebenszeit 2)	
		Impflinge	Kontrollen
1.-10. Tg oral 17. Tg s.c.	Gal-E Mutante ¹⁾ hitzein. Keime	∞	110
1.-10. Tg oral	Gal-E Mutante ¹⁾	∞	
1.-10. Tg oral 17. Tg s.c.	Gal-E Mutante ¹⁾ hitzein. Keime	∞	110
1.-10. Tg oral	Gal-E Mutante ¹⁾	134	
1.-10. Tg oral 17. Tg. s.c.	Gal-E Mutante ¹⁾ hitzein. Keime	134	110
1.-10. Tg oral	Gal-E Mutante ¹⁾	86	

1) Salmonella typhimurium Gal-E Mutante SF 10248

2) Belastungsdosis: 3,2 · 10⁸

∞ = überlebt

Tab. 7: Mittlerer Antikörpertiter bei Kälbern nach oraler und parenteraler Impfung mit *S. typhimurium* Impfstoffen auf der Basis inaktivierter oder lebender avirulenter Keime.

Impfstoff	Immunisierungsschema	Antikörpertiter		Challengedosis	Überlebenszeit (in Stunden)
		vor der Impfung	vor dem Challenge		
inaktiviert	oral 10×10^{12}	neg.	1 : 8	$1,5 \cdot 10^8$	144
	subkutan+ 1×10^9 intramusk. 1×10^9	neg.	1 : 64		144
	subkutan+ 1×10^9 oral+ 10×10^{12} intramusk. 1×10^9	neg.	1 : 128		300
	oral 10×10^{12}	neg.	1 : 20		
inaktiviert (gemixt)	oral+ 10×10^{12} subkutan	neg.	1 : 12	$1,7 \cdot 10^8$	∞
lebend	oral $1 \times 1,2 \cdot 10^{10}$	neg.	neg.	$6 \cdot 10^9$	∞
lebend und inaktiviert	subkutan(in.)+ 1×10^{10} oral (leb.)+ 10×10^{10} subkutan(in.) 1×10^{10} oral (leb.) $10 \times 3 \cdot 10^5$	neg.	1 : 128 neg.	$1 \cdot 10^7$	∞
lebend	oral $10 \times 4,5 \cdot 10^6$ oral $10 \times 2,1 \cdot 10^6$ oral $10 \times 1 \cdot 10^2$	neg. neg. neg.	neg. neg. neg.	$1,8 \cdot 10^7$	∞
Kontrolle		neg.	neg.	$2 \cdot 10^8$	204

D

BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

In der vorliegenden Untersuchung wurden an einem Modell (*Salmonella typhimurium* - Kalb) die wichtigsten aktuellen *Salmonella*-Impfverfahren und Impfstoffe auf ihre Wirksamkeit untersucht. An erster Stelle stand die 10-malige orale Immunisierung mit hitzeinaktivierten *Salmonellen*. Mit diesem Impfverfahren ließ sich die Letalität nach der Belastungsinfektion senken, die Stärke und Dauer des Durchfalls und Fiebers wurde dagegen, abgesehen von einer Verzögerung im Auftreten, selbst bei subletaler Belastung nicht beeinflusst. Dieses Ergebnis war überraschend, wenn man zum Vergleich die Ergebnisse der oralen Immunisierung mit hitzeinaktivierten *E. coli* - Bakterien heranzieht. Mit der 10-maligen oralen Immunisierung ließen sich Kälber vollständig gegen Infektionen mit enteropathogenen *E. coli* - Keimen schützen (BALJER 1979). Das relativ ungünstige Ergebnis der oralen Immunisierung gegen *Salmonella typhimurium* mit hitzeinaktivierten Keimen wird durch die Untersuchung von RAETTIG et al und LEMKE bestätigt. Die Wirksamkeit der oralen "*Salmonella* Immunisierung" war nur unvollständig und beschränkte sich auf eine Milderung des klinischen Verlaufs und Senkung der Mortalität. Nur die Frage der *Salmonellen*-Ausscheidung bei vaccinierten und nicht vaccinierten Tieren blieb umstritten. Bei RAETTIG et al und auch in unseren Untersuchungen wurde kein Unterschied in der *Salmonellenausscheidung* zwischen geimpften und nicht geimpften Tieren nach der Belastungsinfektion festgestellt. DICKEL und LEMKE beschrieben dagegen, daß oral geimpfte Kälber *Salmonella*-Keime nach der Infektion kürzer ausschieden oder daß die Anzahl der *Salmonellen* ausscheidenden Kälber durch die Immunisierung vermindert werden konnte.

Die Ursache für das relativ unbefriedigende Immunisierungsergebnis bei Salmonellen, im Vergleich zu E.coli, könnte an der unterschiedlichen Pathogenese der E.coli und Salmonella-Infektion liegen. Die durch beide Erreger ausgelösten Durchfallerkrankungen manifestieren sich im Dünndarm. Im Gegensatz zur E.coli-Infektion aber, die lokal auf den Dünndarm beschränkt bleibt, kann auf Grund unserer klinischen Beobachtungen und den Ergebnissen von WRAY und SOJKA sowie NAZER und OSBORNE bei Salmonella typhimurium angenommen werden, daß es zu einer Allgemeininfektion kommt. Man muß auch bei der Bewertung in Betracht ziehen, daß bei oraler Aufnahme die Salmonellen zunächst im Rachenbereich resorbiert werden und erst sekundär über den Blutweg den Darm besiedeln können.

Wir vermuteten deshalb, daß man bei der Immunprophylaxe gegen Salmonella typhimurium neben der lokalen Darmimmunität auch die systemische Immunität in die Überlegungen mit einbeziehen muß. Diese Vermutungen konnten wir aber in unseren weiteren Untersuchungen nicht bestätigen. Die parenterale war, obwohl wir sehr hohe humorale Antikörpertiter post vaccinationem maßen, in der Wirksamkeit schlechter als die orale Immunisierung. Die parenterale Immunisierung nützte nur, wenn sie mit der oralen Immunisierung entsprechend kombiniert wurde, d.h. die Wirksamkeit der oralen Salmonella-Immunisierung ließ sich verbessern, wenn parenteral geboostert wurde. Auch dieses Ergebnis spricht für die Bedeutung der lokalen Darmimmunität. Wir wissen aus Untersuchungen von HORSFALL et al und PIERCE et al an anderen Modellen, daß eine bestehende lokale Immunität durch eine parenterale Boosterimpfung verbessert werden kann.

Unsere Ergebnisse mit der kombinierten oralen/parenteralen Impfung waren ermutigend und sollten weiter ausgedehnt werden. Vielleicht erreicht man durch diese Kombination die für einen absoluten Schutz gegen eine Salmonelleninfektion notwendige Stärke der lokalen Darmimmunität.

Auch die Ergebnisse mit den Salmonella-Lebendimpfstoffen sprechen für die Bedeutung der lokalen Darmimmunität. Nach oraler Immunisierung mit Salmonella typhimurium Gal-E Mutanten waren die Kälber vollkommen geschützt, obwohl im Serum post vaccinationem keine Antikörper nachzuweisen waren. Die Problematik beim Lebendimpfstoff lag aber weniger in der Wirksamkeit, sondern mehr in der Unschädlichkeit. Bezüglich der Unschädlichkeit erfüllten die Gal-E Mutanten bei weitem nicht die Anforderungen für einen Einsatz in der Praxis. Dies ist überraschend, wenn man bedenkt, daß die Gal-E Mutanten von der WHO für die Verwendung in Salmonella typhi-Impfstoffen favorisiert werden. Wir prüften z.B. verschiedene Salmonella typhimurium Gal-E Stämme. Davon verzeichneten 2 Stämme in vitro und ein Stamm in vivo Rückmutationen. Die einzige stabile Mutante LT_2M_1B führte in der für eine ausreichende Immunreaktion notwendigen Dosierung zu einer Impferkrankung, die sich kaum von einer natürlichen Salmonella-Infektion unterschied. Als Möglichkeit für die Praxis blieb auch hier nur die Kombination mit der parenteralen Impfung. Mit der Kombinationsimpfung konnte bei voller Wirksamkeit die Dosierung des Lebendimpfstoffes soweit verringert werden, daß keine Impferkrankungen mehr auftraten.

Trotz dieses Ergebnisses und auch anderer günstiger Ergebnisse mit Salmonellen-Lebendimpfstoffen auf der Basis von Sm-d Mutanten (MEYER et al 1977b, 1977 a, b, e) spricht derzeit alles gegen den Einsatz eines Salmonella-Lebendimpfstoffs. Die Salmonellen, vor allem *Salmonella typhimurium*, sind ubiquitär verbreitet.

Der breite Einsatz einer avirulenten Mutante würde die epidemiologische Situation zum Teil verschleiern und durch die notwendige Differenzierung zwischen Impf- und Wildstamm weiter komplizieren. Ganz abgesehen von der Gefährdung durch Rückmutationen kann man nicht voraussehen, ob und in welchem Maße diese Mutanten plasmidgebundene Virulenz- bzw. Resistenzfaktoren aufnehmen und weiter übertragen können. Diese Gefahren werden durch die relativ kurze Überlebenszeit der Mutanten im Organismus nicht entschärft. Es fehlen derzeit einfach noch die notwendigen Erfahrungen mit bakteriellen Impfstoffen auf der Basis avirulenter Mutanten. Solange noch Chancen bestehen, die bakteriellen Infektionskrankheiten mit Impfstoffen aus inaktivierten Keimen erfolgreich zu bekämpfen, sollte man den "inaktivierten Impfstoffen" den Vorzug geben. Betrachtet man die Wirksamkeit und die Unschädlichkeit zusammen, so ergab sich zumindest in unseren Untersuchungen mit der Immunisierung gegen *Salmonella typhimurium* kein wesentlicher Vorteil für die Lebendimpfstoffe.

Bei der Prüfung der Gewichtsentwicklung im Rahmen der Unschädlichkeitsuntersuchungen fiel auf, daß oral mit hitzeinaktivierten *Salmonella typhimurium*-Keimen geimpfte Tiere deutlich besser zunahmen als nicht geimpfte Tiere. Die Ursache dieses "Masteffektes", der schon nach oraler Immunisierung gegen *E. coli* beim Ferkel festgestellt wurde (BALJER 1979), ist noch nicht zu erklären.

Ein überraschendes Ergebnis brachte die Gewichtsentwicklung bei den oral mit dem Kollidon-Impfstoff geimpften Kälbern. Die Tatsache, daß Tiere, denen ein *Salmonella typhimurium*-Impfstoff mit 10 % Kollidon appliziert wurde, während der Impfperiode nicht an Gewicht zunahmen, ohne Krankheits-symptome zu zeigen, ist im Moment schwer zu interpretieren. Es ist möglich, daß durch das Kollidon die Resorption im Darm gestört wird. Sollte dies der Fall sein, könnte man vielleicht durch die reine Gabe von Kollidon auch die Resorption der Salmonellen und damit eine Generalisation unterbinden. In unserer Versuchsanordnung konnte diese Wirkung nicht zum Tragen kommen, da der Abstand zwischen Kollidongabe und Infektion wahrscheinlich zu groß war. Bei entsprechender kurzfristigerer Kollidongabe vor der *Salmonella*-Infektion ließe sich vielleicht das Angehen der Infektion verhindern, bzw. der Krankheitsverlauf mildern. Die endgültige Klärung dieser Hypothese muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

E

ZUSAMMENFASSUNG

Bei Kälbern wurde die Wirksamkeit einer oralen und parenteralen Immunisierung gegen *Salmonella typhimurium* untersucht. Zur Impfung dienten hitzeinaktivierte Keime sowie avirulente lebende Gal-E Mutanten. Die Wirksamkeit wurde im Infektionsbelastungsversuch und durch den Nachweis postvaccinaler humoraler Antikörper bestimmt.

Die Unschädlichkeit des Impfstoffs auf der Basis hitzeinaktiverter Keime war in allen Dosierungen gewährleistet. Beim Lebendimpfstoff (Gal-E Mutante) traten dagegen bis zu einer Dosierung von 10^6 zum Teil heftige Impferkrankungen auf.

Im Infektionsbelastungsversuch wurden nach oraler Impfung mit hitzeinaktivierten Keimen Unterschiede zwischen geimpften und nicht geimpften Tieren nur in den Überlebenszeiten und nicht in der Durchfall- und Fieberquote festgestellt. Eine zweimalige parenterale Impfung mit den hitzeinaktivierten Keimen blieb dagegen absolut wirkungslos.

Nach oraler Impfung mit dem Lebendimpfstoff waren Kälber nach entsprechend hoher Dosierung ($1 \cdot 10^9$) vollkommen vor einer *Salmonella typhimurium*-Infektion geschützt. In diesen Dosierungen kam es aber am ersten Tag nach der oralen Impfung zu heftigen Impferkrankungen.

Das Ergebnis der oralen Impfung konnte durch eine parenterale Boosterimpfung deutlich verbessert werden, und zwar sowohl bei den Impfstoffen aus inaktivierten Keimen als auch beim Lebendimpfstoff aus avirulenten Keimen.

Deutliche O-Antikörpertiteranstiege im Serum maßen wir nur bei den parenteral geimpften Tieren. Es bestand keine Korrelation zwischen O-Antikörpertiter und Infektionsschutz.

SUMMARY

The effectiveness of an oral and parenteral immunisation against *Salmonella typhimurium* was investigated with calves. Heat-inactivated germs and avirulent live Gal-E mutants were used for vaccination. The efficacy was determined by infection challenge test and demonstration of postvaccinal humoral antibodies.

In all dosages the vaccine, based on heat-inactivated germs was harmless. After immunization with live vaccine (Gal-E mutant) there occurred heavy diseases up to a dosage of 10^6 .

In the infection challenge test, after oral vaccination with heat-inactivated bacterias, differences between vaccinated and not vaccinated animals were only observed in survival time and not in diarrhea and fever rate. The double parenteral immunization with heat-inactivated germs remained completely ineffective.

After oral vaccination with an appropriate high dose ($1 \cdot 10^9$) of live, avirulent germs the calves were absolutely protected against *Salmonella typhimurium* infection. On the first day after the oral vaccination with these doses, however, we observed strong vaccination illness.

The results of oral immunization with vaccines made of inactivated germs as well as live vaccines (avirulent bacteria) were evidently improved by a parenteral booster vaccination.

Only in the sera of parenteral vaccinated animals we detected significant increases of O-antibody titer. There was no correlation between O-antibody titer and infection protection.

Literaturverzeichnis

1. Amtsberg G.
Kirpal G.
Lindfeld C.A.
Flasshof F.G.
Bisping W. Untersuchungen zur Feststellung der Verbreitung von Salmonellen in Kälbermastbeständen eines Kreisgebietes Nordwestdeutschlands. Dt. tierärztl. Wschr. 84, 125, 128 (1977)
2. Amtsberg G.
Kirpal G. Zum Vorkommen von Salmonellen bei Hunden und Katzen. Berl. Münchner tierärztl. Wschr. 92, 194 (1979)
3. Asagi M.
Oka C.
Sato G. Isolation of Salmonella typhimurium var. copenhagen from Crows in the City of Otaru. Jap. J. vet. Sci. 38, 521 (1976)
4. Assoku R.K.G.
Penhale W.J.
Brixton A. Hematological Changes in Acute Experimental Salmonella gallinarum Infection in Chickens J. comp. Path. 80, 473 (1970)
5. Baker J.R. Salmonellosis in the Horse Br. vet. J. 126, 100 (1970)
6. Baljer, G. Untersuchungen über die Unschädlichkeit, Wirksamkeit und Grenzen einer oralen Schutzimpfung mit inaktivierten Bakterien bzw. Toxoiden gegen bakterielle Krankheiten am Modell Escherichia coli, Clostridium tetani und novyi und Pasteurella multocida. Vet. Med. Habil. Schr. München (1979)
7. Baskerville A.
Dow C. Pathology of Experimental Pneumonia in Pigs produced by Salmonella cholerae-suis. J. comp. Path. 83, 207 (1973)
8. Baskerville A.
Dow C.
Curran W.L.
Hanna J. Further Studies on Experimental Bacterial Pneumonia: Ultrastructural Changes Produced in the Lungs by Salmonella cholerae-suis. Br. J. expl. Path. 54, 90 (1973)
9. Bayer R.C.
Gershman M.
Bryan T.A.
Rittenburg J.H. Degeneration of Mucosal Surface of the Small Intestine of the Chicken in Salmonella Infection. Poultry Sci. 56, 1041 (1977)

10. Beecham H.J.
Cohen M.L.
Parking W.E. Salmonella typhimurium Transmission by
Fiberoptic Upper Gastrointestinal Endo-
scopy.
J. Am Med. Ass. 241, 1013 (1979)
11. Breer C. Freilandbiologie und Infektzyklen der
Salmonellen.
Schweiz. Arch. Tierheilk. 123, 89 (1981)
12. Broitman S.A. Gut Lactase Activity Decrease during
Salmonella typhimurium Infection in Mice
Proc. Soc. expl. Biol. Med. 136, 1097 (1971)
13. Brown D.D.
Ross J.G.
Smith A.F.G. Experimental Infection of Cockerells with
Salmonella typhimurium.
Res. vet. Sci. 18, 94 (1975)
14. Brown D.D.
Smith A.F.G.
Ross J.G. Experimental Infection of Poultry with Sal-
monella infantis.
Res. vet. Sci. 20, 237 (1976a)
15. Brown D.D.
Ross J.G.
Smith A.F.G. Experimental Infection of Sheep with
Salmonella typhimurium.
Res. vet. Sci. 21, 335 (1976b)
16. Brown D.D.
Ross J.G.
Smith A.F.G. Experimental Infection of Sheep with
Salmonella infantis.
Br. vet. J. 135, 435 (1977)
17. Bulling E. Infektionsquellen für das Tier
Bundesgesundhsbl. 19, 137 (1976a)
18. Bulling E. Verhütung und Bekämpfung der Salmonellose
aus veterinärmedizinischer Sicht.
Bundesgesundhsbl. 19, 281 (1976b)
19. Burkhardt F. Salmonellenübertragung durch Gastroskopie.
Hosp. Hyg. 68, 337 (1976)
20. Cabion B.
Gledel J. Salmonella and Cattle Diseases: Study of
Strains Isolated in France from 1976 to 1978.
Rev. Med. Vet. 131, 63 (1980)
21. Carter P.B.
Collins F.M. The Route of Enteric Infection in Normal
Mice.
J. expl. Med. 139, 1189 (1974)

22. Carter P.B.
Woolcock J.B.
Collins F.M. Involvement of the Upper Respiratory Tract
in Orally Induced Salmonellosis in Mice.
J. infectious Dis. 131, 570 (1975)
23. Chambers P.G.
Lysons R.J. The Inhibitory Effect of Bovine Rumen Fluid
on Salmonella typhimurium .
Res. vet. Sci. 26, 273 (1979)
24. Ciszar V.
Pusztai S.
Takacs J.
Tamas L. Oral enterale exklusiv pharyngo-tonsilläre
Infektionsversuche mit Salmonella typhimurium
an einigen Haustierarten.
Arch. Lebensmittel Hyg. 16, 145 (1965)
25. Ciszar V.
Pusztai S.
Takacs J.
Tamas L. Oral-parenterale, exklusive pharyngo-tonsil-
läre Infektionsversuche.
Arch. Lebensmittel Hyg. 18, 148 (1967)
26. Collins F.M. Salmonellosis in Orally Infected SPF
C 57 B 1 Mice.
Infection Immunity 5, 191 (1972)
27. Collins F.M.
Carter P.B. Growth of Salmonellae in Orally Infected
Germfree Mice.
Infection Immunity 21, 41 (1978)
28. Davies R.
Kotlarski I. Role for Antibody in Expression of Cellular
Immunity to Salmonella typhimurium C.
Aust. J. expl. Biol. med. Sci. 54, 207⁵ (1976)
29. Dickel H. Zur Bekämpfung der Salmonellose in Kälber-
mastbeständen.
Dt. tierärztl. Wschr. 83, 320 (1976)
30. Dwivedi P.
Malhoka F.C.
Chaukan H.V.S. Studies on the Pathology of Blindness in
Experimental Infected Salmonellosis in
Chicks.
Vet. Rec. 92, 644 (1973)
31. Edel W.
Schipper K. Occurrence of Salmonellae in the Bovine Rumen.
Tijdschr. Diergeneesk. 94, 242 (1969)
32. Edel W.
Schothorst M. van
Kampelmacher E.H. Epidemiological Studies on Salmonella in a
Certain Area (Walcheren Project) I.: The
Presence of Salmonella in Man, Pigs, Insects,
Seagulls and in Foals and Effluents.
Zentbl. Bakt. Hyg. 1. Abt. Originale A 235,
576 (1976)

33. Förster D. Salmonella-Vorkommen beim Hund.
Holland U. Zentbl. Vet. Med. B 21, 124 (1974)
Tesfarmariam H.
34. Forbes P. Experimental Salmonella dublin Infection in
Oakley G.A. Calves.
Mackenzie J.A. Vet. Rec. 101, 220 (1977)
35. Fromm D. Ion Transport Across Ileal Mucosa Invaded
Gianella R.A. by Salmonella.
Formal S.B. Gastroenterology 66, 215 (1974)
Quigana R.
36. Garg D.N. The Detection of Nasal Carriers of Salmonella
Sharma V.K. and other Enterobacteria amongst Young Farm
Animals.
Zentbl. Bakt. Gyg. 1 Abt. Originale A 243,
542 (1979)
37. Germanier R. Isolation and Characterisation of Gal-E
Fürer E. Mutant Ty 21a of Salmonella typhi: A Can-
didate for a Live Oral Typhoid Vaccine.
J. infectious Dis. 131, 553 (1975)
38. Gianella R.A. Pathogenesis of Salmonellosis: Studies of
Formal S.B. Fluid Secretion, Mucosal Invasion and
Dammin G.J. Morphologic Reaction in Rabbit Ileum.
Collins H. J. clin. Invest. 52, 441 (1973)
39. Gibbons D.F. Equine Salmonellosis: A Review
Vet. Rec. 106, 356 (1980)
40. Gibson E.A. The Veterinary Surgeon as a Possible Vector
of Bovine Salmonellosis.
Vet. Rec. 106, 445 (1980)
41. Guinee P.A.M. Salmonella Infections in Fattening Calves.
Edel W. Tijdschr. Diergeneesk. 92, 158 (1967)
Kampelmacher E.H.
42. Hall G.A. Changes in the Rat Placenta Following In-
oculation with Salmonella dublin.
Am. J. Path. 72, 103 (1973)
43. Hall G.A. An Investigation into the Mechanism of Pla-
cental Damage in Rats Inoculated with
Salmonella dublin.
Am. J. Path. 77, 299 (1974)

44. Hall G.A. A Comparative Study of Liver Changes Produced by Inoculating Pregnant Rats with Salmonella dublin or with its Endotoxin. Br. J. expl. Path. 56, 216 (1975)
45. Hall G.A. An Experimental Study of Salmonella dublin
Jones P.W. Abortion in Cattle. Br. vet. J. 132, 60 (1976)
46. Hall G.A. A Study of Pathogenesis of Experimental
Jones P.W. Salmonella dublin Abortion in Cattle. J. comp. Path. 87, 53 (1977)
47. Hall G.A. The Pathogenesis of Experimental Intra-
Jones P.W. ruminal Infections of Cows with Salmonella
Aitken M.M. dublin. J. comp. Path. 88, 409 (1978)
48. Hall G.A. Experimental Oral Infections of Pregnant
Jones P.W. Heifers with Salmonella dublin. Br. vet. J. 135, 75 (1979)
49. Hall G.A. Studies of the Virulence of Salmonella dublin
Jones P.W. in Experimental Infections in Calves and Rats.
Parsons K.R. Br. vet. J. 135, 243 (1979)
Chanter N.
Aitken M.M.
50. Hall G.A. Hematology of Experimental Salmonella dublin
Jones P.W. Infections of Pregnant Heifers. Br. vet. J. 136, 182 (1980)
Parsons K.R.
Young E.R.
Aitken M.M.
51. Hartmann H. Untersuchungen zur Salmonellose des Kalbes I.
Meyer H. Mitteilung: Ermittlung eines Infektionsmodells
Koch H. und Versuche zur Pathogenese.
Steinbach G. Arch. expl. Vet. Med. 27, 289 (1973)
Günther H.
52. Hartmann H. Pathogenese, Klinik und Verlauf der
Slucka R. Salmonellose (Salmonella dublin) des Rindes.
Koch H. Mh. Vet. Med. 29, 824 (1974)
53. Hawbecker D.E. Toxigenesis and Infection of Mice by
Hamdy M.K. Salmonella enteritidis.
Carpenter J.A. Proc. Soc. expl. Biol. Med. 134, 390 (1970a)

54. Hawbecker D.E.
Carpenter J.A.
Hamdy M.K. Translokation and Fate of ^{32}P Labeled Salmonella in Mice.
Proc. Soc. expl. Biol. Med. 135, 546 (1970b)
55. Heindl H. Vergleichende experimentelle Untersuchungen zur oralen Immunisierung gegen Salmonella typhimurium bei Maus, Ferkel und Kalb.
Inaugural Diss. München (1980)
56. Hess E.
Breer C. Salmonellenepidemiologie und Grünlanddüngung mit Klärschlamm.
Zentbl. Bakt. Gyg. 1. Abt. Originale B 161, 54 (1975)
57. Hill A.W.
Hibbitt K.G.
Shears A.L. A Comparison of Salmonella dublin Infection in Normal and Endotoxintolerant Mice.
J. comp. Path. 85, 285 (1975)
58. Hinton M. Salmonella Abortion in Cattle
Vet. Bull. 41, 973 (1971a)
59. Hinton M. Salmonella dublin Abortion in Cattle: Preliminary Observations on the Serological Response.
Vet. Rec. 88, 481 (1971b)
60. Hinton M. Salmonella dublin Abortion in Cattle.
Vet. Rec. 93, 162 (1973)
61. Hinton M. Salmonella dublin Abortion in Cattle: Studies of the Clinical Aspects of the Condition.
Br. vet. J. 130, 556 (1974)
62. Hörter R. Orale Immunisierungsversuche an Tauben mit Salmonella typhimurium var. copenhagen.
Dt. tierärztl. Wschr. 78, 56 (1971)
63. Horsfall D.J.
Brown M.A.
Rowley D. The Suppressive Effect of Circulating Specific Antibody on the Response to Oral Immunisation with Vibrio cholerae.
Aust. J. expl. Biol. Med. Sci. 57, 271 (1979)
64. House J.A. Economic Impact of Rotavirus and Other Neonatal Disease Agents of Animals.
J. Am. Vet. Med. Ass. 173, 573 (1978)

65. Hunter A.G.
Corrigan W.
Mathiesson A.O.
Scott J.A. An Outbreak of Salmonella typhimurium in
Sheep and its Consequences.
Vet. Rec. 98, 126 (1976)
66. Ingram D.G.
Malcomson M.E. Antibodies to Escherichia coli in Young
Calves: O Antigens.
Am. J. Vet. Res. 31, 61 (1970)
67. Kampelmacher E.H.
Guinee P.A.M.
Noorle Jansen L.M. Artificial Salmonella Infections in Specific
Pathogen-Free Rats of Different Ages.
Tijdschr. Diergeneesk. 94, 1373 (1969a)
68. Kampelmacher E.H.
Guinee P.A.M.
Noorle Jansen L.M. Artificial Salmonella Infections in Rats.
Zentbl. Vet. Med. 16B, 173 (1969b)
69. Kampelmacher E.H.
Edel W.
Guinee P.A.M.
Noorle Jansen L.M. Experimental Salmonella Infections in Pigs.
Zentbl. Vet. Med. 16B, 717 (1969c)
70. Kane D.W. The Prevalence of Salmonella Infection in
Sheep at Slaughter.
N.Z. Vet. J. 27, 110 (1979)
71. Katsube Y.
Tanaka Y.
Imaizumi K.
Masuda K. Salmonella Carriers in Swine.
Jap. J. vet. Sci. 35, 25 (1973)
72. Kiupel H.
Dürpling H.
Noel R. Zur Salmonella typhimurium Infektion des
Rindes unter besonderer Berücksichtigung
der Epizootiologie.
Mh. Vet. Med. 34, 321 (1979)
73. Knothe H.
Wiedemann G. Untersuchungen über den Infektionsablauf
bei Enteritisalmonellen.
Zentbl. Bakt. Hyg. 1. Abt. Originale A 203,
176 (1967)
74. Krämer J. Salmonellen Übertragung von der Mutter auf
das Neugeborene.
Dt. med. Wschr. 102, 84 (1977)
75. Kredel L.
Gasparaitis A.
Schettler G.
Bamberger M. Klinischer Verlauf der Typhusinfektion im
Raum Heidelberg.
Dt. med. Wschr. 100, 2209 (1975)

76. Krum S.H.
Stevens D.R.
Hirsh D.C. *Salmonella arizonae* Bacteriemia in a Cat.
J. Am. Vet. Med. Ass. 170, 42 (1977)
77. Lawson G.H.K.
Dow C. The Pathogenesis of Oral Infection of Pigs
with *Salmonella cholerae-suis* var. kunzen-
dorf.
J. comp. Path. 75, 75 (1965)
78. Leaney N.
Cooper G.H.
Jackson G.D.F. Percloacal Infection of Chickens with
Salmonella typhimurium.
Vet. Microbiol. 3, 155 (1978)
79. Lemke H. Vergleichende Untersuchungen über die natür-
lichen Antikörper und die orale Immunisierung
gegen Typhus und Paratyphus beim Menschen
und gegen *Salmonella typhimurium* bei Kälbern.
Inaugural Diss. Kiel (1968)
80. Levai F.
Labanoz A.
Jazay R. Leber- und Gallengangskomplikationen des
Abdominaltyphus im Kindesalter.
M Schr. Kinderheilk. 121, 79 (1973)
81. Liow T.M.
Loh H. *Salmonellae* Isolated from Pigs Slaughtered
Jurong Abbatoir.
Singapore Vet. J. 1, 37 (1977)
82. Matthes S.
Lölliger H.C. Beitrag zur Kinetik bakterieller Infektionen
beim Huhn.
Berl. Münchner tierärztl. Wschr. 89, 98 (1976)
83. Mayr A.
Rojahn A. Infektionsfördernde und Infektionshemmende
Faktoren bei der Massentierhaltung.
Tierärztl. Umschau 23, 555 (1968)
84. Mc Allum H.J.F.
Familton A.S.
Brown R.A.
Hemmingsen P. *Salmonellosis* in Red Deer Calves.
N.Z. vet. J. 26, 130 (1978)
85. Mc Caughey W.J.
Mc Clelland T.G.
Mc Bride P.S. An Outbreak of *Salmonella* give Infection in
Cattle.
Vet. Rec. 86, 422 (1979)
86. Mc Caughey
Kavanagh P.J.
Mc Clelland T.G. Experimental *Salmonella dublin* Infection
in Shepp.
Br. vet. J. 127, 557 (1971a)

87. Mc Caughey W.J. A Knackery Survey of Salmonellae in Cattle.
Pearson J.K.L. Vet. Rec. 89, 479 (1971b)
Mc Clelland T.G.
88. Mercuri A.J. Relation of Enterobacteriaceae Counts to
Cox N.A. Salmonella Contamination of Market Broilers.
Carson M.O. J. Fd. Prot. 41, 427 (1978)
Tanner D.A.
89. Meyer H. Untersuchungen zur Salmonellose des Kalbes.
Hartmann, H. 2. Mitt.: Immunisierungsversuche mit attenu-
Steinbach G. ierten Salmonella dublin - Keimen.
Koch H. Arch. expl. Vet. med. 27, 301 (1973)
Kittlick M.
Stelzner A.
Linde K.
90. Meyer H. Untersuchungen zur Salmonellose des Kalbes.
Hartmann H. 3. Mitt.: Vorklinische Erprobung eines Smd-
Steinbach G. Salmonella - dublin - Impfstoffes.
Koch H. Arch. expl. Vet. med. 31, 71 (1977)
Kittlick M.
Linde K.
Löffler I.
Erler W.
Flossmann K.D.
Feist H.
Schulz W.
91. Meyer H. Untersuchungen zur Salmonellose des Kalbes.
Steinbach G. 4. Mitt.: Orale und parenterale Immunisierung
Hartmann H. mit Lebend- (Smd) und Totantigen.
Hauke H. Arch. expl. Vet. med. 31, 95 (1977)
Koch H.
Stelzner A.
Linde K.
Schmerbauch A.
Kiupel H.
92. Meyer H. Untersuchungen zur Salmonellose des Kalbes.
Hartmann H. 5. Mitt.: Klinische Erprobung des oral zu
Steinbach G. verabreichenden Smd-Salmonella-dublin-Impf-
Schulz W. stoffes.
Günther H. Arch. expl. Vet. med. 31, 277 (1977)
Kiupel H.
Koch H.
Linde K.

93. Morris J.A.
Wray C.
Sojka W.J. The Effect of T and B Lymphocytes Depletion on the Protection of Mice Vaccinated with Gal-E Mutant of Salmonella typhimurium. J. expl. Path. 57, 354 (1976)
94. Morse E.V.
Duncan M.A. Canine Salmonellosis: Prevalence, Epizootiology, Signs and Public Health Significance J. Am. Vet. Med. Ass. 167, 817 (1975)
95. Narucka U.
Westendorp J.F. Presence of Salmonella in the Bone Marrow of Normal Slaughtered Pigs. Tijdschr. Diegeneesk. 102, 871 (1977)
96. Nazer A.H.K.
Osborne A.D. Experimental Salmonella dublin Infections in Calves. Br. vet. J. 133, 388 (1977)
97. Neussel H.
Cohnen G. Ausscheidung von Salmonella typhimurium im Urin. Med. Klin. 64, 1084 (1969)
98. Oprea W. Infektionen mit Enteritis-Salmonellen - nicht enterale Lokalisationen. Dt. med. Wschr. 100, 1425 (1975)
99. Overgoor G.H.A.
König C.D.W.
Michelsen W.H.
Roseboom M. Outbreak of Salmonella dublin Infection among Veal Calves in Gelderland Province Netherlands. Tijdschr. Diergeneesk. 103, 532 (1978)
100. Owen R.
Fullerton J.H.
Tizard I.R.
Lumsden G.H.
Barnum D.A. Studies on Experimental Enteric Salmonellosis in Ponies. Can. J. comp. Med. 43, 247 (1979)
101. Pardon P.
Marly J. Experimental Salmonella abortus-ovis Infection of Normal or Primo-infected CD1 Mice. Annls. Microbiol. (Inst. Pasteur) 130B, 21 (1979)
102. Pardon P.
Marly J.
Sanchis R. Experimental Salmonella abortus-ovis Infection in Ewes. Vet. Rec. 106, 389 (1980)
103. Peterson J.K.
Coon R.E. Salmonella typhimurium Infection in Dairy Cows. J. Am. Vet. Med. Ass. 151, 344 (1968)

104. Petrie L. Salmonellosis in Young Calves due to *Salmonella enteritidis*.
Selman I.E. Vet. Rec. 101, 398 (1977)
Grindlay M.
Thompson H.
105. Pick M. *Salmonella*-typhimurium-Infektion als Komplikation bei inneren Erkrankungen des Pferdes
Dt. tierärztl. Wschr. 77, 183 (1970)
106. Pierce N.F. Induction of a Mucosal Antitoxin Response
Cray W.C. and its Role in Immunity to Experimental
Sircar B.K. Canine Cholera.
Infection Immunity 21, 185 (1977)
107. Pietzsch O. Verbreitung der *Salmonella* Infektionen bei
Bulling E. Tieren, tierischen Lebens- und Futtermitteln
in der Bundesrepublik Deutschland einschl.
Berlin (West).
Jahresbericht 1971
Bundesgesundhsbl. 15, 321 (1972)
108. Pietzsch O. Verbreitung der *Salmonella* Infektionen bei
Bulling E. Tieren, tierischen Lebens- und Futtermitteln
in der Bundesrepublik Deutschland einschl.
Berlin (West).
Jahresbericht 1972
Bundesgesundhsbl. 16, 194 (1973)
109. Pietzsch O. Verbreitung der *Salmonella* Infektionen bei
Bulling E. Tieren, tierischen Lebens- und Futtermitteln
in der Bundesrepublik Deutschland einschl.
Berlin (West).
Jahresbericht 1973/1974
Bundesgesundhsbl. 19, 97 (1976)
110. Pietzsch O. Verbreitung der *Salmonella* Infektionen bei
Tieren, tierischen Lebens- und Futtermitteln
in der Bundesrepublik Deutschland einschl.
Berlin (West).
Jahresbericht 1975/1976
Bundesgesundhsbl. 21, 389 (1978)
111. Pietzsch O. Verbreitung der *Salmonella* Infektionen bei
Tieren, tierischen Lebens- und Futtermitteln
in der Bundesrepublik Deutschland einschl.
Berlin (West).
Jahresbericht 1977
Bundesgesundhsbl. 22, 153 (1979)

112. Pietzsch O. Infektionsketten Tier - Mensch.
Bundesgesundhsbl. 19, 146 (1976)
113. Pöhn H.P. Ergebnisse des zentralen Überwachungsprogramms des Bundesgesundheitsamtes für Salmonellosen im Jahr 1973.
Bundesgesundhsbl. 18, 53 (1975)
114. Pöhn H.P. Salmonellose Überwachung beim Menschen in der Bundesrepublik Deutschland einschl. Berlin (West)
Jahresbericht 1974
Bundesgesundhsbl. 18, 373 (1975)
115. Pöhn H.P. Salmonellose Überwachung beim Menschen in der Bundesrepublik Deutschland einschl. Berlin (West)
Jahresbericht 1975
Bundesgesundhsbl. 20, 133 (1977)
116. Pöhn H.P. Salmonellose Überwachung beim Menschen in der Bundesrepublik Deutschland einschl. Berlin (West)
Jahresbericht 1976
Bundesgesundhsbl. 22 29 (1979)
117. Pöhn H.P. Salmonellose Überwachung beim Menschen in der Bundesrepublik Deutschland einschl. Berlin (West)
Jahresbericht 1977
Bundesgesundhsbl. 23, 225 (1980)
118. Pritchard D.G. Effects of Gal-E Mutant of Salmonella typhimurium on Experimental Salmonellosis in Chickens.
Nivas S.C. York M.D. Pomeroy B.S. Avian Dis. 22, 562 (1978)
119. Raettig H.J. Immunprophylaxe der Kälbersalmonellose durch orale Impfung mit inaktivierten Bakterien.
Laudahn G. Mülling M. Fortschr. Vet. Med. 17, 9 (1972)
120. Raettig H.J. Pathogenese und Immunität bei bakteriellen Darminfektionen.
Bundesgesundhsbl. 17, 285 (1974)

121. Ralovich B.
Rauss K. Das Schicksal der Maus-avirulenten Salmonellen bei oraler Verabreichung.
Zentbl. Bakt. Hyg. 1. Abt. Originale A211, 315 (1969)
122. Rankin J.D.
Taylor R.J.
Burrows M.R. Observations on the Effect of Introducing Salmonella Infected Calves to a Commercial Beef Rearing Unit.
Vet. Rec. 86, 366 (1970)
123. Richardson A. The Transmission of Salmonella dublin to Calves from Adult Carrier Cows.
Vet. Rec. 92, 112 (1973a)
124. Richardson A. Obstetrical Difficulties in Salmonella dublin Carrier Cows.
Vet. Rec. 92, 151 (1973b)
125. Robinson R.A.
Cohen K.I. Age Susceptibility and Excretion of Salmonella typhimurium in Calves.
J. Hyg. (Camb.) 66, 207 (1968)
126. Rout W.R.
Formal S.B.
Dammin G.J.
Giannella R.A. Pathophysiology of Salmonella Diarrhea in the Rhesus Monkey: Intestinal Transport, Morphological and Bacteriological Studies.
Gastroenterology 67, 59 (1974)
127. Ruitenberg E.J.
Guinee P.A.M.
Kruyt B.D. Salmonella Pathogenesis in Germ-free Mice. A Bacteriological and Histological Study.
Br. J. expl. Path. 52, 192 (1971)
128. Ryder R.W.
Merson M.H.
Pollard R.A.jr.
Gangarosa E.J. Salmonellosis in the United States 1968-1974.
J. infectious Dis. 133, 483 (1976)
129. Sadler W.W.
Brownell J.R.
Fanelli M.J. Influence of Age and Inoculum Level on Shed-Pattern of Salmonella typhimurium in Chickens.
Avian Dis. 13, 793 (1969)
130. Sandefuhr P.D.
Peterson J.W. Isolation of Skin Permeability Factors from Culture Filtrates of Salmonella typhimurium.
Infection Immunity 14, 671 (1976)

131. Sandsted K.
Gunnarson A.
Hurvell B.
Nordblom B.
Rutquist L.
Söderlind O. Salmonellae Isolated from Animals and Feed-stuffs in Sweden during 1973-1977.
Nord. Vet. Med. 32, 57 (1980)
132. Smith B.P.
Reina Guerra M.
Hardy A.J.
Habasha F. Equine Salmonellosis: Experimental Production of Four Syndroms.
Am. J. Vet. Res. 40, 1072 (1979a)
133. Smith B.P.
Habasha F.
Riena Guerra M.
Hardy J. Bovine Salmonellosis: Experimental Production and Characterisation of the Disease in Calves Using Oral Challenge with Salmonella typhimurium.
Am. J. Vet. Res. 40, 1510 (1979b)
134. Smith B.P. Atypical Salmonellosis in Horses: Fever and Depression without Diarrhea.
J. Am. Vet. Med. Ass. 175, 69 (1979)
135. Smith H.W. The Immunisation of Mice, Calves and Pigs against Salmonella dublin and Salmonella cholerae-suis Infections.
J. Hyg. (Camb.) 63, 117 (1965)
136. Smith R.A.
Bigley N.J. Ribonucleic and Acid-Protein Fractions of virulent Salmonella typhimurium as Protective Immunogens.
Infection Immunity 6, 377 (1972)
137. Snoeyenbos G.H.
Carbon V.L.
Smyser C.F.
Olesiuk O.M. Dynamics of Salmonella Infections in Chicks Reared on Litter.
Avian Dis. 13, 72 (1969)
138. Soerjadi A.S.
Druitt J.H.
Lloyd A.B.
Cumming R.B. Effect of Environmental Temperature on Susceptibility of Young Chickens to Salmonella typhimurium.
Aust. Vet. J. 55, 413 (1979)
139. Sojka W.J.
Wray C.
Hudson E.B.
Benson J.A. Incidence of Salmonella Infection in Animals in England and Wales 1968 - 1973.
Vet. Rec. 96, 280 (1975)
140. Spence J.B.
Westwood A. Salmonella agona Infection in Sheep.
Vet. Rec. 102, 332 (1978)

141. Schmitthenner W. Übersichtsuntersuchungen von Fleckviehzucht-
kälbern aus Nordbayern und Nordwürttemberg
auf Salmonellen und Magen-Darm-Parasiten.
Tierärztl. Umschau 34, 174 (1979)
142. Schulz W. Salmonellose des Rindes: Vorkommen, wirtschaft-
Kiupel H. liche Bedeutung, Epizootiologie.
Günther H. Mh. Vet. Med. 30, 530 (1975)
143. Steinhagen P. Ein experimenteller Beitrag zur Salmonellen-
Fritzsche K. Arthritis bei Tauben.
Berl. Münchner tierärztl. Wschr. 82, 421 (1969)
144. Stieger H. Praxisbericht über eine akute Salmonellose bei
einem Rennpferd.
Tierärztl. Umschau 29, 337 (1974)
145. Straube W. Bakteriämie und Sepsis durch sogenannte
Enteritis-Salmonellen.
Med. Klin. 61, 912 (1966)
146. Stuart B.P. Salmonella-induced Meningoencephalitis in
Martin B.R. a Foal.
Williams L.P. J. Am. Vet. Med. Ass. 162, 211 (1973)
Byren H.
147. Takeuchi A. Electron Microscope Studies of Experimental
Salmonella Infection I: Penetration into
the Intestinal Epithelium by Salmonella
typhimurium.
Am. J. Path. 50, 109 (1967)
148. Takeuchi A. Electron Microscope Studies of Experimental
Sprinz H. Salmonella Infection in the Preconditioned
Guinea-Pig II: Response of the Intestinal
Mucosa to the Invasion by Salmonella typhi-
murium.
Am. J. Path. 51, 137 (1967)
149. Tanaka Y. Experimental Carrier in Dogs Produced by Oral
Katsube Y. Administration of Salmonella typhimurium.
Imaizumi K. Jap. J. vet. Sci. 38, 569 (1976)
150. Thomas G.W. Salmonella paratyphi B Infektion in Dairy
Harbourne J.F. Cows II: Investigations of an Active Carrier.
Vet. Rec. 91, 148 (1972)
151. Thomas G.W. Experimental Salmonella dublin Infection in
Harbourne J.F. Housed Sheep.
Vet. Rec. 94, 414 (1974)

152. Thompson H. Canine Salmonellosis.
Wright N.G. J. Small Anim. Pract. 10, 579 (1969)
153. Timbs D.V. Chronic Cholecystitis in a Dog Infected with
Durham P.J.K. Salmonella typhimurium.
Bamsley D.G.C. N.Z. Vet. J. 22, 100 (1974)
154. Tizard I.R. Free Flying Sparrows als Carriers of
Fish N.A. Salmonellosis.
Harmeson J. Can. Vet. J. 20, 143 (1979)
155. Turnbull P.C.B. A Model of Salmonella Enteritis: The Beha-
Richmond J.E. viour of Salmonella enteritidis in Chick
Intestine Studied by Light- and Electron-
microscopy.
Br. J. expl. Path. 59, 64 (1978)
156. Tyrpe P. Epizootiologie und Bekämpfung einer
Freimuth U. Salmonellose (Salmonella eimsbuettel)
Schulz H. bei Besamungsebern.
Mh. Vet. Med. 34, 521 (1979)
157. Uecker E. Eine perakut verlaufende Salmonella cholerae-
Steinmetz G. suis Infektion in einem Schweinemastbestand.
Fuchs H.W. Mh. Vet. Med. 33, 605 (1978)
Schindler W.
158. Volkman A. Pathogenesis of Salmonella-Associated Arthri-
Collins F.M. tis in the Rat.
Infection Immunity 11, 222 (1975)
159. Volkmann A. Role of Host Factors in the Pathogenesis of
Collins F.M. Salmonella-Associated Arthritis in Rats.
Infection Immunity 13, 1154 (1976)
160. Weise H.J. Typhus abdominalis 1974.
Bundesgesundhsbl. 18, 141 (1975)
161. Weise H.J. Salmonellose - Zivilisationsseuche.
Bundesgesundhsbl. 19, 17 (1976)
162. Weisser W. Salmonellaisolierungen aus Faezes von kli-
nisch erkrankten Hunden und Katzen.
Der prakt. Tierarzt 61, 121 (1979)
163. Wenkhoff S. Salmonella typhimurium Septicemia in Foals.
Can. Vet. J. 14, 284 (1973)

164. Williams B.M. Environmental Consideration in Salmonellosis.
Vet. Rec. 96, 318 (1975)
165. Williams G. Effects of Infection on Selected Clinical
Newberne P.M. Biochemical Parameters in Dogs.
Br. J. expl. Path. 51, 253 (1970)
166. Woolcock J.B. Bacterial Infection and Immunity in Domestic
Animals 70, 157, 205 (1979)
167. Wray C. The Immunisation of Mice and Calves with
Sojka W.J. Gal-E Mutants of Salmonella typhimurium.
Morris J.A. J. Gyg. (Camb.) 79, 17 (1977)
Morgan W.J.B.
168. Wray C. Experimental Salmonella typhimurium Infection
Sojka W.J. in Calves.
Res. Vet. Sci 25, 139 (1978)
169. Wray C. Some Hematological and Blood Biochemical
Findings during Experimental Salmonella
typhimurium Infection in Calves.
Zentbl. Vet. Med. 27, 365 (1980)
170. Statistisches Jahrbuch Ernährung, Landwirt-
schaft und Forsten 1980

Herrn Professor Dr. DDr. h.c. A. Mayr danke ich für die Überlassung des Themas, die großzügige Unterstützung und die gebotenen Möglichkeiten zur Durchführung der Arbeit.

Ebenso danke ich Herrn Dr. G. Baljer für seine vielen hilfreichen Hinweise und die gewährte Betreuung.

Mein Dank gilt ferner allen Mitarbeitern des Instituts, die mich bei der Anfertigung dieser Arbeit unterstützten.

Lebenslauf

Am 16. Oktober 1955 wurde ich, Till Lugtenburg, als Sohn des Willem Lugtenburg und seiner Ehefrau Marion Lugtenburg, geb. Falk, in München geboren.

Von 1961 bis 1965 besuchte ich in Starnberg die Volksschule. Anschließend wechselte ich ins Gymnasium Starnberg über, das ich 1974 mit der Reifeprüfung verließ.

Mit dem Wintersemester 1974/1975 begann ich an der Tierärztlichen Fakultät der Universität München das Studium der Tiermedizin. Am 12. Februar 1980 schloß ich dieses Studium mit dem Staatsexamen ab. Seit März 1980 bin ich approbierter Tierarzt.

